UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET PHARMACIE

ANNEE 1951 N° 133

SUR CERTAINES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES D'INSUFFISANCE HÉPATIQUE AU COURS DE LA SYPHILIS

THESE
POUR LE
DOCTORAT DE L'UNIVERSITE
MENTION PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement en Avril 1951

par

Jacques VERGÈS
PHARMACIEN
DIPLOMÉ DE SÉROLOGIE
DE MICROBIOLOGIE ET DE PHYTOPHARMACIE
EX MONITEUR A LA FACULTÉ

Membres du Jury
- MM. NANTA, Président
- CAUJOLLE, VINCENT, BAZEX — Assesseurs
- COUTURIER, Suppléant

IMPRIMERIE DE LA GARONNE, 45, Rue des Fontaines, TOULOUSE

UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET PHARMACIE

ANNEE 1951 N° 133

SUR CERTAINES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES D'INSUFFISANCE HÉPATIQUE AU COURS DE LA SYPHILIS

THESE

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE

MENTION PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement en Avril 1951

par

Jacques VERGÈS

PHARMACIEN

DIPLOMÉ DE SÉROLOGIE

DE MICROBIOLOGIE ET DE PHYTOPHARMACIE

EX MONITEUR A LA FACULTÉ

Membres du Jury

MM. NANTA, Président

CAUJOLLE, VINCENT, BAZEX, Assesseurs

COUTURIER, Suppléant

IMPRIMERIE DE LA GARONNE, 45, Rue des Fontaines, TOULOUSE

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

TABLEAU DU PERSONNEL

Doyen	MM. LEFEBVRE
Assesseur	BRUSTIER
Doyens honoraires	GORSE, CALVET

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. RISPAL	M MERIEL
LAFFORGUE	
MM. RIBAUT	
SERR	

PROFESSEURS

Clinique de neurologie et de psychiatrie	MM. RISER
Clinique médicale	TAPIE, ROQUES
Clinique obstétricale	GUILHEM
Physiologie	SOULA
Clinique chirurgicale et du cancer	DUCUING
Physique biologique et médicale	BUGNARD
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	NANTA
Chimie et Toxicologie	BRUSTIER
Pathologie générale et médecine expérimentale	SENDRAIL
Clinique chirurgicale et gynécologique	LEFEVBRE
Anatomie	LAZORTHES
Histoire naturelle	DELAS
Clinique médicale infantile et puériculture	SOREL (R.)
Pharmacie	CAUJOLLE
Pathol. interne et clinique des maladies de la tuberculose	MOREL
Bactériologie, hygiène, médecine sociale	ANDRIEU
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	VIRENQUE
Clinique des maladies des voies urinaires	FABRE (P.)
Matière médicale	VINCENT
Hydrologie thérapeutique et climatologie	MERIEL
Aanatomie pathologique	FABRE (J.)
Clinique oto-rhino-laryngologique et chirurgie	CALVET
Clinique ophtalmologique	CALMETTES
Chimie biologique	VALDIGUIE
Médecine légale et du travail	PLANQUES
Histologie et embryologie	BROUSSY
Médecine sociale	BOUNHOURE
Thérapeutique	GADRAT
Pathologie chirurgicale	GRIMOUD
Stomatologie	CADENAT

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Physiologie	BAISSET
	M. COULOUMA

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Anatomie	MM. POULHES
Histologie	BIMES
Sciences Naturelles	BOUISSET
Bactériologie	Mme ENJALBERT
Chimie Biologique	MM. POLONOVSKI
Physique Médicale	AUVERGNAT

Médecine	MM. DARNAUD, GERAUD, DARDENNE, LAPORTE. BAUDOT.	Chirurgie	MM. RIEUNAU, DIEULAFE, DAMBRIN (P.)
Ophtalmologie			MM. DEODATI
Physique Médicale			MARQUES
Obstétrique			PONTONNIER
Pharmacie			COUTURIER
Chimie générale pharmaceutique			BLANC
Botanique			Mme DULUCQ-MATHOU
O. R. L			MM. CLAUX
Urologie			LHEZ

COURS COMPLEMENTAIRES

Cours d'obstétrique aux élèves sages-femmes	MM. GUILHEM
Chimie biologique	DOUSTE-BLAZY
Chimie minérale	BLANC
Physique pharmaceutique	AUVERGNAT
Dermatologie et syphiligraphie	BAZEX
Législation pharmaceutique	BOUISSET
Tuberculose	MOREL
Chirurgie pulmonaire	DAMBRIN (P.)
Parasitologie	BAUDOT
Cryptogamie	Mme DULUCQ-MATHOU
Chimie analytique	MM. BLANC
Hydrologie et Géologie	ASTRE
Anatomie médico-chirurgicale	THOMAS
Pharmacodynamie	BAISSET
Bactériologie et Hygiène	LAPORTE
Urologie	LHEZ
Ophtalmologie	DEODATI
Neuro-CChirurgie	LAZORTHES
Mycologie	MORQUER
Psychiatrie	GAYRAL
Oto-Rhino-Laryngologie	CLAUX
Secrétaire de la Faculté	M. ARGILAS

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.
(Délibération en date du 12 mai 1891).

RIJKS UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A LA MÉMOIRE DE MA GRAND'MÈRE :

MADAME VEUVE PASCAL

Pour toute la tendresse qu'elle m'a prodiguée.

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

Qui m'a laissé l'exemple d'une vie toute de droiture et de dévouement.

A MON PÈRE

Pour tant de sacrifices si généreusement consentis.

Témoignage de reconnaissance et de profonde affection.

A MA FEMME

A MA SŒUR

A TOUS LES MIENS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR NANTA

Professeur de Clinique des Maladies Cutanées et Syphilitiques,
Directeur du Centre de Sérologie,
Chevalier de la Légion d'honneur.

Qui nous a inspiré ce sujet de thèse et ouvert les portes de son service hospitalier.

Témoignage de reconnaissance et de respectueux dévouement.

A NOTRE JURY DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR CAUJOLLE

Professeur de Pharmacie,
Chevalier de la Légion d'honneur.

Sous la direction duquel, pendant notre monitorat, nous nous sommes initiés aux techniques minutieuses du Laboratoire.

Témoignage de reconnaissance et de respectueuse admiration.

MONSIEUR LE PROFESSEUR VINCENT

Professeur de Matière Médicale,
Sous-Directeur du Centre de Sérologie.

Qui nous a dirigé dans cette étude avec sa bienveillance coutumière.

Témoignage de déférente et vive gratitude.

MONSIEUR LE DOCTEUR BAZEX

Chargé de Cours à la Faculté.

MONSIEUR LE PROFESSEUR COUTURIER

Professeur Agrégé à la Faculté.

AUX MÉDECINS DES HOPITAUX

Qui ont rendu ce travail possible.

A NOTRE AMI MONSIEUR LE DOCTEUR SALVADOR

Chef de Travaux de Sérologie.

Avec l'assurance de nos remerciements pour son aide et ses encouragements.

A NOTRE AMI MONSIEUR J. TARBOURIECH

A NOS CAMARADES DE LABORATOIRE

A NOS AMIS

INTRODUCTION

Depuis 1920, s'est développée, à côté de la Sérologie classique appliquée au diagnostic de la Syphilis, une nouvelle Sérologie que certains auteurs qualifient à l'heure actuelle d' « Hépato-Sérologie ».

Comme son nom l'indique, son but est de tester le fonctionnement hépatique.

De nombreuses épreuves biochimiques ont déjà été réalisées à cet effet. Chacune d'elles sonde une des nombreuses fonctions du Foie.

Basée sur le déséquilibre protidique du Sérum observé dans les maladies de cet organe, la Sérologie Hépatique permet, par la pratique simultanée de quelques-uns de ses Tests, la réalisation d'un « Instantané Hépatique » sérologique.

Voici la liste chronologique des Principaux tests hépatiques connus :

Réaction de la Formol-gélification (Gaté et Papacostas, 1920).
Réaction de Takata-Ara au sublimé (Takata et Ara 1925, Staub 1929, Jezler 1934).
Séro-coagulation de Weltmann au chlorure de calcium (Weltmann, 1930).
« Cephalin-Cholesterol Floculation test » C.C.F. test (Hanger, 1938-1939).
Réaction à l'Or colloïdal (Gray 1940, Mac Lagan 1944-1946).
Réaction à l'Argent colloïdal (Riebeling, Scharff et Neumann 1944).
« Thymol turbidity Test » (Mac Lagan, 1944).
Test au Sulfate de Cadmium (Wunderly et Wuhrmann. 1945).
« Thymol floculation Test » (Neefe 1946, Mac Lagan 1947).
« Scarlach Red Test » (Maizels, 1946).
Test au Sulfate de Cuivre (Kunkel, 1947).
Test au Sulfate de Zinc (Kunkel, 1947).
Test à l'Eau distillée (Hejda-Dreyfuss 1948, Vincent et Segonzac 1948).

Tous ces tests sont des tests de trouble et de floculation. Nous citerons, pour être complet, une Réaction de déviation du Complément dans les Hépatites, réalisée en 1944 par Findlay, Martin et Mitchell.

Nous avons étudié une « batterie » de quatre Tests : (Réactions de Hanger, Mac Lagan, Kunkel, Gros) en Clinique. Nous nous sommes surtout intéressé à la Syphilis où nous avons pratiqué les trois premiers nommés.

Monsieur le Professeur Nanta nous a fait l'honneur de nous confier ce sujet de Thèse. Monsieur le Professeur Vincent a eu l'amabilité de nous faire profiter de son expérience de la Sérologie Hépatique et nous a dirigé dans ce travail.

Dans une première partie, nous justifierons d'abord l'emploi de la Sérologie Hépatique. Nous envisagerons ensuite successivement et dans l'ordre suivant : Réaction de Hanger, Réaction de Mac Lagan, Réaction de Kunkel, les techniques, les mécanismes biochimiques, les services rendus en clinique dans les maladies hépatiques. Après

avoir posé la notion de « Protéinogramme », nous verrons, enfin, les résultats donnés dans les maladies extrahépatiques et la notion de participation hépatique possible. Nous concluerons en faisant le point pour les faits et facteurs les plus importants de cette nouvelle Sérologie.

Dans la deuxième partie, nous exposerons d'abord les techniques que nous utilisons, nos résultats en Clinique hépatique et dans la Syphilis. Nous terminerons en passant en revue l'ensemble de notre mise au point des deux parties.

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Justification de l'Emploi de la Sérologie Hépatique

1. Bref Aperçu historique sur l'Etude des Protéines Sériques dans les Maladies du Foie

Ces études ont porté sur les Protéines circulantes de malades atteints d'affections chroniques du Parenchyme Hépatique.

Une étude expérimentale des *Protéines circulantes* fut réalisée par Myers et Keefer (1935), Bollmann et Mann (1936), Tumen et Bockus (1937). Elle permit de reconnaître l'importance fondamentale du Foie dans ce métabolisme.

Dès 1929, en utilisant les techniques de *précipitation fractionnée par les sels*, Abrami et Wallich, et Salvesen, avaient démontré une altération très nette du rapport $\frac{\text{Albumine A}}{\text{Globuline G}}$ dans la Cirrhose.

En 1939, Tiselius mit au point une technique perfectionnée d'*Electrophorèse* qui rendit possibles des études ultérieures riches de signification. Citons parmi les Auteurs qui l'ont utilisée: Leutscher (1940), Gray et Barron (1943), Kabat, Hanger, Moore et Landow (1943), Thorn, Armstrong et Davenport (1946), Malmross et Blix (1946), Fauvert (1949) et Hartmann (1949), Martin (1949).

Chaque perfectionnement apporté aux techniques d'analyse des Protéines sanguines a donc permis une connaissance plus complète de ces composés. Les investigations primitives de la protidémie totale, du rapport $\frac{\text{Albumine}}{\text{Globuline}}$ cèdent peu à peu le pas à l'étude des diverses fractions protidiques par l'électrophorèse.

Nous ne dirons rien des deux premières techniques qui sont déjà abondamment connues. Quelques mots seulement pour situer l'électrophorèse en tant que technique et ses résultats.

Un échantillon de Sérum dialysé pendant soixante-douze heures ou plus, à froid, face à une solution tampon de force ionique et de pH définis, fournit le matériel pour l'électrophorèse.

Introduites dans l'appareil de Tiselius, véhiculées par le même solvant, soumises à un champ électrique constant, les diverses protéines migrent et leur vitesse respective de migration étant inverse-

ment proportionnelle à leur poids moléculaire, une séparation se produit au bout d'un certain temps.

L'étude de l'indice de réfraction le long du tube à électrophorèse a permis de les séparer en différentes couches (*Valeur qualitative*).

L'enregistrement optique en fonction de cet indice, et de la distance parcourue le long du tube, fournit des graphiques électrophorétiques. Ils sont constitués par des ondes successives qui représentent chacune une fraction protéinique. Le calcul de la surface d'une onde donne le pourcentage de la fraction qu'elle représente par rapport au tout (*Valeur quantitative*).

De la plus mobile à la moins mobile, on a ainsi pu séparer et doser dans le Sérum, l'Allbumine et trois fractions globuliniques : les α, β et γ globulines. On n'a cependant pas affaire à des groupes homogènes, des perfectionnements ultérieurs ayant permis de séparer des sous-fractions globuliniques : (2 α, 3 β, 2 γ).

2. Valeur des différentes techniques face au déséquilibre protidique

Dans le Sérum d'un homme normal, la Sérum-Albumine et les Sérum-Globulines coexistent en équilibre stable. Sörensen considère les protéines sériques comme un système de composés dissociables réversibles. Il est donc compréhensible qu'au cours des atteintes du parenchyme hépatique, où les protéines sont perturbées, s'installe un équilibre métastable basé sur les perturbations des deux groupes d'éléments précédents. Voyons la valeur des différentes méthodes, notamment dans le diagnostic différentiel des ictères.

Loeper (1945) constate, dans le début de l'ictère catarrhal, une hyperprotéinémie. Mais celle-ci tend, en quelques jours, vers un taux normal et même vers l'hypoprotéinémie. L'hyperprotéinémie n'est donc pas la règle, et Anne Jourdain (1947) constate une protidémie normale dans la majorité des ictères catarrhaux apyrétiques et infectieux fébriles. Les valeurs normales étant la règle dans les ictères par obstruction, le taux de Protidémie totale a peu de valeur.

Le rapport A/G est abaissé au cours de certains ictères et plus encore dans les cirrhoses du fait de l'abaissement de l'Albumine et de l'augmentation de la Globuline qu'il signale. Quoique non spécifique d'un état hépatique et d'un type d'ictère, il est de quelque secours pour le diagnostic et le pronostic de ce dernier, mais il ne permet pas de trancher catégoriquement. Donc, plus précocement touché que la Protidémie, il est cependant souvent normal, en dépit d'anomalies certaines du Sérum.

L'analyse électrophorétique a été, par contre, un moyen d'investigation précieux, qui a permis de déterminer de manière détaillée le déséquilibre protidique au cours des différentes affections hépatiques.

3. Images électrophorétiques des Affections Hépatiques

Ictères par Rétention.

Gray et Barron (1943) ont observé, dans 5 cas de calcul du cholédoque avec ictère intense et foie normal reconnu chirurgicalement,

une albumine normale (ou légèrement abaissée : 2 cas), des β globulines légèrement augmentées, des α et γ globulines inchangées.

Il y a donc peu de perturbation dans les Protéines. Les valeurs du Rapport A/G, trouvées par l'électrophorèse et par les méthodes de précipitation fractionnée, sont normales.

Ictères par hépatite.

Les mêmes auteurs, dans cinq ictères catarrhaux, ont trouvé la Sérum-Albumine nettement diminuée, des α globulines normales et une augmentation fréquente des β globulines, constante et parfois forte des γ globulines. Dans un cas d'hépatite arsénicale, ils notèrent une forte augmentation des β globulines, modérée des γ globulines. Les autres fractions se comportaient comme plus haut.

Les perturbations portent donc essentiellement sur un abaissement de la Sérum-Albumine, une augmentation nette des γ globulines, et une augmentation accessoire des α ou des β globulines. Signalons que le rapport A/G obtenu par électrophorèse est abaissé, alors que, celui par analyse chimique est normal.

Cirrhoses.

Les travaux de Longsworth et ses collaborateurs (1939), et de Luetscher (1940-1941) portant sur 4 cas, mettent en lumière une baisse de la Sérum-Albumine et une augmentation des β et γ globulines. Mais leurs recherches ont été effectuées à des étapes déjà tardives de l'affection où les méthodes ordinaires avaient détecté des anomalies importantes de l'équilibre protidique.

Gray et Barron (1943) les étudièrent au premier stade. Ils observèrent un déséquilibre assez semblable à celui des Hépatites, quoique plus accentué. Les γ globulines sont augmentées jusqu'à 30 % de leur valeur normale, les β globulines le sont quelquefois. Pour ces auteurs, l'élévation des globulines compenserait l'abaissement de l'albumine : c'est pourquoi, lorsque l'augmentation des β et γ fractions est insuffisante, les α augmentent.

Martin (1949) a suivi 9 malades pendant deux ans au moins ou jusqu'à leur mort. Le diagnostic est étayé par l'autopsie (5 cas), la laparatomie (2 cas), deux analyses pour chaque malade. Il a éliminé les cas avec évidence clinique et biologique d'obstruction importante et n'a utilisé que des sérums de non fébricitants. En effet, Gardner et Gainsborough (1930) ont montré qu'on peut s'attendre à une augmentation du cholestérol dans les cas avec obstruction à l'écoulement biliaire. Blix (1941) a indiqué que la β globuline est la principale forme de transport des lipides circulants et, avec Tiselius et Svensson (1941) a démontré que les α et β globulines étaient riches en cholestérol et en structures conjuguées. De plus, Longsworth, Shedlowsky et Mac Innes (1939) ont signalé, chez les malades fiévreux, un accroissement des α globulines. Martin a pu observer un gros abaissement de l'albumine, des α globulines normales ou abaissées, des β globulines normales ou légèrement augmentées (1 cas sur 9). Il insiste sur l'accroissement absolu des γ globulines, persistant jusqu'à la mort.

Contrairement à Gray, il ne croit pas à un effet compensateur de l'augmentation des globulines. Il indique un manque de corré-

lation, d'une part, avec le taux des protéines totales, d'autre part, entre le taux de l'albumine et le degré d'ascite et d'œdème général.

Dans la cirrrhose portale, Rickets, Sterling, Kirschner et Palmer (1949) constatent de manière constante une élévation des γ globulines, une diminution des albumines et, parfois, un accroissement des β globulines. D'après ces auteurs, les malades avec ascite auraient des valeurs plus basses de protéines que ceux sans ascite.

4. Intérêt des Réactions de floculation de la Sérologie Hépatique

Comme on le voit, le rapport A/G nous a seulement permis de remarquer la présence d'une hypoalbulinémie et d'une hyperprotidémie nette dans les Hépatites et plus nette encore dans les Cirrhoses.

L'Electrophorèse nous a donné une vue d'ensemble beaucoup plus vaste et détaillée. Il en ressort que l'augmentation concomitante des γ globulines d'un Sérum, associée à une baisse de la Sérum-Albumine constitue, du point de vue hépatique, un signe biologique important puisqu'on trouve ce syndrome biologique dans les cirrhoses et les hépatites.

Il était donc tentant de faire de cette découverte électrophorétique un signe diagnostique et peut-être même pronostique. Mais la complexité et la délicatesse de cette technique, qui en fait un moyen de haute recherche scientifique, mais non de laboratoire de Biologie Clinique, risquait de faire évanouir ces espoirs aussitôt que conçus.

Heureusement, l'étude électrophorétique du mécanisme de différentes réactions de la Sérologie Hépatique montra que ces dernières étaient capables de révéler les modifications qualitatives et quantitatives des protéines comme indiquées plus haut. Certaines même (comme la Réaction de Hanger) ont pu révéler des modifications qualitatives qui étaient restées voilées à l'électrophorèse.

C'est donc ici, que viennent se placer tout naturellement les Réactions de l' « Hépatosérologie ». Leurs techniques sont relativement simples et d'exécution rapide et, à condition d'en observer scrupuleusement les règles, donnent des résultats satisfaisants.

Il faut donc se féliciter de posséder, à l'heure actuelle, ces raccourcis biologiques (« Short cuts », de Mac Lagan).

CHAPITRE II

Techniques

1. Réaction de HANGER.

C'est en 1938, que Hanger décrivit un nouveau test qui lui permettait de détecter une atteinte hépatique. Il consiste à ajouter à une dilution de sérum dans l'eau physiologique, une suspension colloïdale aqueuse de céphaline-cholestérol : la réaction est positive lorsque une floculation se produit. Celle-ci n'intervient pas avec les sérums normaux.

En 1939, l'auteur appliqua son nouveau test à la différenciation des ictères par hépatite et par obstruction et le trouva d'une grande valeur.

A. La technique originale de l'Auteur

(Publications de 1938-1939).

C'est empiriquement que furent découvertes la propriété indiquée plus haut et les différentes conditions utilisées.

1. *Préparation de la Céphaline.*

On deshydrate par action de l'acétone à trois reprises, des cerveaux de mouton. La poudre de tissu desséché obtenue subit alors trois extractions successives à l'éther exempt de peroxydes. On concentre sous vide l'extrait éthéré, dont on précipite la céphaline par addition de 4 volumes d'alcool absolu. On redissout dans le minimum d'éther le précipité obtenu. On précipite par refroidissement et on élimine par centrifugation les impuretés d'accompagnement (Cérébrosides). On précipite à nouveau la solution éthérée surnageante par 4 volumes d'alcool absolu, on refroidit. Le précipité est ensuite filtré, lavé à l'alcool, à l'acétone, et desséché.

La céphaline ainsi préparée se présente sous la forme d'une poudre brune qui contient des traces d'autres lipides. Cependant, ceux-ci n'ont aucun effet sur la réaction.

2. *Solution stock éthérée de Céphaline-Cholestérol.*

On dissout 100 mgr. de céphaline de cerveau de mouton et 300 mgr. de cholestérol dans 8 cm³ d'éther anesthésique. Cette solution se conserve plusieurs mois, en flacon bien bouché, sans détérioration.

3. *Emulsion aqueuse Réactif.*

On la prépare en ajoutant doucement et en agitant 1 cm³ de la solution stock éthérée à 35 cm³ d'eau fraîchement distillée, préalablement réchauffée à 65°-70°. On chauffe alors lentement jusqu'à ébullition et on laisse mijoter doucement jusqu'à réduction à un volume final de 30 cm³. Au cours de cette ébullition, les gros grumeaux se dispersent peu à peu, toutes les traces d'éther sont éliminées

et on obtient une émulsion stable, opaque, laiteuse. Refroidi à la température de la pièce, le réactif est prêt pour l'emploi.

4. *Pratique du test.*

On place, dans un tube à centrifuger, 0,2 cm³ de sérum. On dilue par 4 cm³ de solution salée à 8,5 pour 1.000. On ajoute, en dernier lieu, 1 cm³ d'émulsion aqueuse réactif. On abandonne, au repos, à la température de la pièce, le tube après agitation et bouchage au coton.

5. *Lecture des Résultats.*

Après vingt-quatre et quarante-huit heures, on note le processus de floculation ou de précipitation qui s'est produit.

Avec un sérum normal, l'émulsion reste stable et homogène. On note : négatif. Pour un test négatif, il faut quarante-huit heures sans floculation.

Une précipitation complète qui laisse le liquide surnageant clair comme de l'eau indique une réaction ++++.

On désigne par les termes +, ++, +++, les divers degrés de flloculation compris en 0 et ++++.

6. *Précautions opératoires.*

Elles portent sur :

Le Sérum qui doit être employé frais de préférence, ou conservé en glacière. On peut utiliser le plasma, mais la présence d'anticoagulants crée des incertitudes incontrôlables.

L'émulsion aqueuse qui, préparée convenablement, reste stable plusieurs jours, mais qu'il faut utiliser le jour même pour avoir des résultats comparables.

La verrerie qui doit être soigneusement lavée, toute trace d'acides ou de métaux lourds pouvant donner de fausses réactions positives.

B. La valeur de la Réaction :

Hanger (1939) indique l'intérêt de sa réaction dans le diagnostic différentiel des ictères et lui reconnaît une grande valeur.

Rosenberg (1941) trouve la réaction sensible et l'applique au diagnostic des formes légères et subcliniques d'atteinte du foie. Il confirme sa valeur dans le diagnostic différentiel où il considère les réactions ± (légère floculation) et + données dans les rétentions comme négatives.

Hanger et Patek (1941) lui trouvent un intérêt pronostique dans la cirrhose du foie.

Mateer, Baltz, Marion et Hollands (1942) lui trouvent le même intérêt, et signalent 5 cas + sur 40 sujets présumés normaux.

De même, Watson et Rappaport (1945), Dick (1945) qui trouve 13 % de réactions positives + après quarante-huit heures et, plus tard, Makari (1946) montrent sa valeur en clinique.

Zimmermann et ses collaborateurs (1947) la trouvent trop sensible.

Cependant, quelques auteurs obtiennent des résultats irréguliers et posent le problème des fausses réactions positives.

C. « Les fausses réactions positives ». Les différents facteurs susceptibles d'influencer la réaction

a. *Préparation de la Céphaline.*

Rafsky et Newmann, d'une part, Mateer, Baltz, Marion et Hollands, d'autre part (1943), constatèrent que si l'on utilisait de la céphaline parfaite, on obtenait de fausses réactions négatives et que le « mûrissement » à la lumière solaire de la céphaline pendant quelques semaines, fournissait de fausses réactions positives. Les derniers nommés observèrent également qu'une exposition prolongée de l'antigène à la lumière solaire éliminait quelque peu la fausse floculation avec les sérums normaux. C'est ce qui amena Mateer (1944) à penser que le procédé de « mûrissement » tend d'abord à augmenter de manière marquée la sensibilité de la céphaline et, plus tard, à l'abaisser pour une raison indéterminée.

Signalons que, dès 1941, Rosenberg indiquait qu'on évitait les fausses réactions positives en laisant séjourner la céphaline plusieurs semaines à l'air; elle s'oxyde et devient brun noir. De même, Hanger et Patek demandaient que les antigènes utilisés ne soient pas trop récents (au moins six semaines après préparation). Un antigène plus récent est trop sensible. Nous aurons assez insisté sur ce facteur en signalant que pour l'avoir négligé Lippincot et ses collaborateurs (1945) trouvèrent, en utilisant les mêmes sérums de rechutes de malaria et deux lots différents d'émulsion réactif, respectivement 82 et 21 % de positivité. Pour la même raison, Pohle et Stewart trouvèrent 18 positifs sur 23 cas d'ictères par rétention (soit 78 %), ce qui les conduisit à douter de la valeur de la réaction dans le diagnostic différentiel des ictères. Notons, d'ailleurs, que leurs sérums provenaient de cas à évolution prolongée (plus d'un mois) où l'insuffisance hépatique avait pu s'installer.

b. *Age du Sérum.*

Primitivement, Hanger (1939) se contente d'opérer sur des sérums frais ou conservés à la glacière. Rosenberg (1941) signale qu'on s'expose à de fausses réactions positives en utilisant des sérums réfrigérés depuis un ou plusieurs jours.

Pohle et Stewart (1941), Clay et Moore (1942), Wade et Richman (1945), insistèrent même pour qu'on opère dans les six heures qui suivent le prélèvement des sérums.

Nous avons personnellement étudié 15 cas de vieillissement et, à notre avis, ces dernières exigences sont quelque peu exagérées.

c. *Photosensibilité et Température.*

D'autres facteurs importants ont été découverts beaucoup plus récemment.

La Photosensibilité : ceci résulte d'études de Neefe et Reinhold (1944) et Mateer. Moses insiste également sur ce fait en 1945. Pour les premiers nommés, elle expliquerait les fausses réactions positives (++ et +++) de Pohle (1941), de Mateer et ses collaborateurs (1942), et d'Oliphant, Gilliam et Larson (1943). Neefe et Reinhold opérèrent sur les mêmes sérums à l'obscurité et à la lumière. Ils

ont éliminé les causes d'erreurs suivantes : facteurs personnels, différences de sensibilité de l'antigène, impuretés des réactifs. Ils ont tiré les conclusions suivantes sur l'influence de la lumière, du temps d'attente entre la dilution du sérum et l'addition de l'antigène, et de la température d'incubation.

La lumière artificielle (lampe à filament incandescent) et naturelle (jour) positive les réactions des sérums normaux (12 sérums positifs, dont 4 à +++ et ++++, sur 12 testés) et accentue les réactions faiblement positives (sérums de rétentions chroniques). Quatre sérums d'hépatite ne voient pas leur degré de positivité atténué quand ils sont protégés de la lumière. Ils obtiennent les mêmes résultats à l'obscurité totale et à demi-jour.

Le sérum dilué et laissé à la lumière pendant cinq heures avant addition de l'antigène donne de fausses réactions positives chez les normaux et accentue les positifs faibles.

A la température de 37°5, la floculation intervient plus rapidement qu'à la température de la pièce et positive parfois des résultats négatifs.

Il s'agit donc, pour se placer dans les meilleures conditions, de protéger sérums et réactifs (solution stock et émulsion réactif) de la lumière pendant la conservation, le test et l'incubation. On pratique cette dernière entre 20° et 25° et on ajoute, le plus rapidement possible, l'émulsion réactif après la dilution du sérum.

d. *Lecture.*

Ce facteur, peu signalé, à notre connaissance, dans la littérature, peut être aussi une cause d'erreur. Les seuls renseignements donnés jusqu'à ce jour sont les suivants :

Hanger (1939) qui définit :

Réaction négative : aucun changement dans l'aspect du tube.

Réaction ++++ : précipitation totale avec liquide surnageant complètement éclairci.

Rosenberg (1941) indiqua qu'on doit noter une légère floculation : Réaction douteuse ±.

Frisch et Quilligan donnèrent, en 1947, une gamme de lecture, mais pour un test de dilution à antigène modifié.

D. Les techniques modifiées

Comme nous venons de le voir, la technique primitivement décrite par Hanger est trop sensible. La plupart des modifications apportées touchent un ou plusieurs facteurs. Elles ont pour but, soit de réduire cette sensibilité, soit de rendre la réaction plus maniable. Nous classerons ces techniques d'après les différents facteurs intéressés.

1. *Préparation de la Céphaline.*

On trouvera, dans une communication de Barbier, quelques détails techniques complémentaires (1948). D'après Huriez, Desurmont et Arquembourg (1948), la déshydratation à l'acétone se fait mieux et plus rapidement en opérant sur de la poudre de cervelle préalablement broyée avec un quart de son poids de sable. Cette opération permet d'éviter l'altération du produit.

2. *Solution stock éthérée.*

Varay et Costil (1948) gardent cette solution bien bouchée à la glacière pendant plusieurs mois. Bénard, Albahary, Gadjos, Mme Poussier-Hauville et Rambert ne l'y conservent que deux mois.

3. *Emulsion aqueuse Réactif.*

Elle ne doit être conservée que pendant quelques jours (sept au maximum) et doit être utilisée dans ce délai après lequel elle perd sa stabilité. Elle donnerait alors des résultats non valables (Varay et Costil, 1948).

On a intérêt à utiliser pour sa préparation de l'eau distillée fraîchement préparée, exempte de traces de métaux lourds, de matières organiques et d'acides forts. Toutes ces conditions sont parfaitement remplies par l'emploi d'eau bidistillée. Il est en outre conseillé d'éviter les contaminations bactériennes dans l'émulsion.

Quant à la préparation proprement dite, nous n'indiquerons que les différences avec la technique originale.

Technique de Frisch et Quilligan :

Ces Auteurs versent la solution stock, goutte à goutte et en agitant, sur de l'eau bidistillée non réchauffée, donc à la température de la pièce (20° à 25°). Cette opération terminée, ils commencent le chauffage. Ils obtiennent un antigène plus opalescent dans lequel les particules sont plus grossièrement dispersées.

Ils tiennent compte, dans la pratique de leur test, des expériences de Neefe et Reinhold, L'antigène est ajouté rapidement après la dilution du sérum dans l'eau physiologique, l'incubation se faisant dans une pièce sombre, à une température comprise entre 20° et 25°.

Après les essais infructueux de Bruger (1943), dont la technique n'est pas jugée viable par Mirsky et von Brecht (1943), Frisch et Quilligan (1947) ont proposé une technique de dilution à sept tubes, où les dilutions s'échelonnent de 1/4 à 1/256. Chaque tube contient 0,8 cm³ de dilution appropriée et 0,2 cm³ d'émulsion antigène modifiée par les auteurs, et l'incubation dure vingt heures, à 5°. En effet, d'après les auteurs, certains sérums d'hépatite précipitent mieux à 5° qu'à 21°. On lit :

\+ : Aspect granuleux visible dans l'émulsion.

\++ : Aspect granuleux accru avec ou sans légère sédimentation.

\+++ : Lourde agglutination de particules avec 50 à 75 % de sédimentation.

\++++ : Agglutination et sédimentation complète de l'émulsion.

On note par un score cumulatif des sept tubes : ex. : 4+ × 7 = 28.

Ce test aurait l'avantage de donner des résultats nuancés, non influencés par la lumière ou l'âge du sérum (même six mois), ce qui permettrait de réexaminer un sérum, mais surtout de stocker des sérums de positivité connue, grâce auxquels on pourrait titrer les antigènes. Il éviterait, en outre, les faux positifs.

Technique de Varay et Costil (1948-1949-1950) :

C'est celle de Hanger modifiée seulement dans l'ordre d'affusion

des constituants : l'eau distillée, chauffée à 65° - 70°, est ajoutée goutte à goutte à la solution stock. Bénard et ses collaborateurs (1949) utilisent la même technique, mais avec de l'eau bidistillée, effectuent la réduction dans un Bécher en Pyrex, sur le brûleur d'un Bunsen, et l'émulsion obtenue est refroidie à l'obscurité.

Alliot (1948) utilise la technique même de Hanger, mais avec 3,5 cm^3 d'eau bidistillée et 0,1 cm^3 de solution stock. Cette technique permet de préparer journellement et économiquement de l'antigène frais, mais présente quelque danger d'erreur si on ne contrôle pas rigoureusement la solution éthérée stock très volatile.

4. *Pratique du Test :*

Tous les auteurs français insistent sur la fraîcheur du sérum et la propreté de la verrerie; Varay demande un sérum prélevé à jeun, Delore et ses collaborateurs un sérum âgé de moins de six heures. La plupart font grand cas de la photosensibilité, évitant l'exposition à la lumière à tous les stades de la réaction. Une incubation à une température comprise entre 20° et 25°, un pipettage rapide des divers ingrédients sont des gages intéressants de succès.

Comme Rosenberg (1941), Bénard et ses collaborateurs (1949) ajoutent un tube témoin contenant les mêmes quantités d'eau salée et d'émulsion lipidique. Saifer (1948) utilise trois témoins : un témoin contenant l'eau salée, un témoin contenant du sérum négatif, un autre avec un sérum ++++.

5. *Lecture des Résultats.*

Temps d'incubation : La plupart des auteurs français utilisent les lectures de vingt-quatre et quarante-huit heures. Cependant, Bénard et ses collaborateurs préfèrent celles de quarante-huit heures; Justin-Besançon, Debray et leurs collaborateurs (1950) utilisent celles de vingt-quatre et quarante-huit heures, mais préconisent de ramener la seconde à trente-six heures et une notation allant de + à +++. Varay et Costil (1948) ont, en effet, noté la précocité de floculation des sérums très positifs qui peuvent précipiter dans les quatre heures.

Saifer (1948) préfère, avec bien d'autres auteurs, à la suite des travaux déjà relatés de Dick (1945), la lecture unique de vingt-quatre heures.

Enfin, Moloney, Donovan et Whoriskey (1948), étudiant les facteurs de positivité de la réaction, virent que la centrifugation active la précipitation. Leur technique consiste à mélanger par agitation 0,1 cm^3 de sérum, 0,2 cm^3 d'eau salée, 0,2 cm^3 d'émulsion dans des tubes de Kahn, qu'on centrifuge 3 minutes à 1.500 tours. Le temps d'incubation est très court, la lecture s'effectuant immédiatement ensuite d'après les normes de Hanger. Les auteurs reconnaissent à leur procédé l'avantage d'être rapide et d'éviter certains « Faux positifs », mais admettent également des « Faux négatifs ».

Mode de Lecture :

Bénard et ses collaborateurs (1949) ont proposé une lecture photométrique, après quarante-huit heures et redispersion du précipité,

grâce au photomètre Vernes, Jobin et Yvon, écran vert, λ comprise entre 525 et 550 mμ. On soustrait du chiffre trouvé pour le tube réaction celui du tube témoin. Cependant, ces auteurs indiquent que le Hanger est assez variable avec la mesure d'opacité.

Récemment, Saifer (1948) a proposé un test qualitatif complémentaire qui dose le cholestérol du précipité. Après la lecture habituelle de vingt-quatre heures du test de Hanger, le tube est centrifugé 15 minutes à 3.000 tours, le liquide est décanté, le tube et le précipité soigneusement séchés au papier filtre. Après addition de 0,1 cm^3 d'eau distillée et 4,5 cm^3 de mélange anhydride acétique-Dioxane, le contenu du tube porté 30 minutes ou plus au B-M bouillant et agité de temps en temps, refroidi ensuite à la température de la pièce, est complété à 5 cm^3 par le mélange Dioxane-anhydride. On termine par un dosage de cholestérol par la méthode de Saifer-Kammerer (1946).

Les résultats qualitatifs (Tube test moins Tube témoin salé) exprimés en Unités Cholestérol (1 mgr. de cholestérol total pour 0,2 cm^3 de sérum) sont directement proportionnels aux résultats du Hanger classique. La gamme s'étend de 0 à 240 Unités, les valeurs normales (au-dessous de +) étant inférieures à 100 Unités et donnant en moyenne 43 U.

La technique, reproductible avec de minimes erreurs, présente l'intérêt d'une lecture plus nuancée et fidèle. Elle est basée sur des faites électrophorétiques en sa faveur que nous verrons dans le mécanisme.

Personnellement, nous nous sommes efforcés de donner une gamme de lecture plus fine et nuancée, écartant ainsi le plus possible les causes d'erreur subjectives.

2. Réaction de MAC LAGAN.

En 1944, Mac Lagan travaillait à améliorer la technique de la Réaction à l'Or colloïdal de Gray par l'emploi d'une solution tampon barbiturique à pH 7,8. Le hasard l'amena à remarquer que ce tampon, protégé des contaminations bactériennes par du thymol, produisait un trouble marqué ou un précipité avec certains sérums. Ces sérums provenaient le plus souvent de malades présentant à la fois une atteinte hépatique parenchymateuse et un test à l'Or positif.

La constatation de cette coïncidence fut un trait de lumière pour l'auteur qui établit une corrélation entre le trouble par le thymol et la réaction à l'Or colloïdal. Il put dégager ultérieurement un certain nombre de principes, qui l'amenèrent à la mise au point d'une nouvelle réaction sérologique de l'Hépatite.

A. Considérations expérimentales :

1. *pH et Force ionique : μ*

Ces facteurs sont très importants. En faisant varier le pH et la Force ionique du tampon thymol, l'auteur remarqua que l'augmentation de l'un ou de l'autre des deux diminue le trouble. Celui-ci est maximum à un pH compris entre 5 et 6. Cependant, le souci d'assurer la spécificité la plus grande à la réaction par une différence maxima de trouble entre sérums normaux et d'hépatite, fit adopter à Mac Lagan une force ionique basse et un pH voisin de 8.

2. *Composé chimique actif.*

L'étude de 25 composés chimiques divers, dont 9 phénoliques, révéla la plus grande activité du phénol et de ses homologues supérieurs, et l'existence d'une relation étroite entre le poids moléculaire, la solubilité, et le pouvoir précipitant du corps.

Le souci d'utiliser un composé de poids moléculaire élevé et cependant assez soluble pour assurer efficacement la précipitation, fit choisir le thymol en solution saturée. Il s'y trouve à basse concentration (0,11 %), ce qui lui ajoute le mérite de simplifier l'analyse du précipité.

Pour toutes ces raisons, l'emploi d'une solution saturée de thymol, tamponnée à pH 7,8 et de force ionique μ : 0,01, s'imposa à Mac Lagan.

B. Technique originale de Mac Lagan (1944* et **) « Thymol turbidity test »

1. *Préparation du Réactif :* Solution Tampon de thymol (pH 7,8; μ : 0,01).

On pèse 1 gr. 03 de Véronal sodique, 1 gr. 38 de Véronal et 3 gr. environ de thymol. On ajoute 500 cc. d'eau distillée. On chauffe juste jusqu'à début d'ébullition, on agite vigoureusement et on laisse complètement refroidir. Le mélange primitivement limpide s'est troublé. On ensemence avec quelques cristaux de thymol réduits en poudre, puis on agite et on laisse reposer une nuit à la température de 20°-25°. Une nouvelle agitation évite la sursaturation et on sépare par filtration la solution claire du dépôt cristallin.

Comme la solubilité du thymol est notablement abaissée à une température inférieure à 20°, il est bon, par temps froid, de garder le réactif dans un endroit tempéré.

2. *Pratique de la réaction.*

On mélange 1 volume de sérum (0,05 cm^3) à 60 volumes de solution tampon (3 cm^3). On laisse reposer pendant trente minutes à une heure. Il est conseillé d'utiliser des tubes secs et du sérum frais, non inactivé, la réaction étant partiellement abolie par chauffage du sérum à 56° pendant trente minutes.

3. *Lecture.*

L'auteur utilise, pour comparer le trouble obtenu dans sa réaction, la gamme néphélémétrique de Kingsbury, Clark, Williams et Post (1926). Celle-ci est couramment utilisée dans les pays anglo-saxons pour connaître la richesse de l'urine en albumine et peut être obtenue dans le commerce. Ces auteurs proposent deux échelles opacimétriques :

Une gamme stable à la Gélatine-Formazine : Elle est constituée par un mélange de sulfate d'hydrazine et d'hexaméthylène-tétramine en suspension dans de la gélatine solidifiée par le formol.

Une gamme au Sérum : On prépare, grâce à un sérum de richesse

protéique connue (Méthode de KJELDAHL) et de NaCl à 15 %, une solution contenant 1 gr. pour 1.000 de protéines. Cette solution mère permet l'obtention de solutions titrant respectivement 0,10-0,20-0,40, etc. gr. pour 1.000. Pour l'essai, on prélève 2,5 cm³ de ces solutions, on ajoute 7,5 cm³ d'une solution d'acide sulfosalicylique à 3 %, on agite et on compare au bout de trente minutes.

MAC LAGAN utilise la gamme stable, mais conseille de la contrôler tous les quelques mois par le procédé de la gamme au sérum.

Il exprime le résultat en Unités arbitraires à partir de cette gamme. Pour l'obtenir, il suffit de diviser le taux d'albumine du tube étalon correspondant au trouble de la Réaction par 10. Ex. : Une réaction donnant un trouble égal à 0,50 titre 5 Unités.

Lorsque le trouble est supérieur à celui de l'étalon 100 mgr., on dilue avec un nouveau volume égal de tampon. On tient compte, dans la lecture, de ce taux de dilution.

Ex. : Si, après dilution par un nouveau volume égal de tampon, la réaction développe un trouble correspondant à 0,70, on notera :

$$7 \times 2 = 14 \text{ Unités Mac Lagan (14 U.M.L.)}$$

4. *Interprétation des Résultats.*

Un trouble marqué signe la réaction positive. Un sérum normal ne donne qu'un trouble léger.

MAC LAGAN (1944) indiqua que les réactions donnant des troubles de 0 à 4 Unités se trouvaient dans les limites normales. Ultérieurement, des précisions supplémentaires ont été données par MAIZELS (1946).

0 à 4 Unités MAC LAGAN :	Réaction négative.
4 à 8 Unités »	Réaction légèrement positive..... +
8 à 10 Unités »	Réaction positive..... ++
12 à 20 Unités »	Réaction fortement positive..... +++

C. VALEUR DE LA RÉACTION

MAC LAGAN (1944**), par l'étude des sérums de 248 cas de maladies de Foie et de 217 cas témoins, confirma la valeur de sa Réaction comme test du dysfonctionnement hépatique. Les résultats positifs obtenus dans l'Hépatite et la Cirrhose, négatifs (la plupart du temps) dans l'obstruction, incitèrent l'auteur à utiliser la réaction pour le diagnostic différentiel des ictères.

Le test fut rapidement utilisé dans les pays anglo-saxons. En 1947, les travaux de VINCENT et de ses collaborateurs (Toulouse) ; de PAGET, SERVANTIE et M^lle JOURDAIN (Bordeaux) ; de JUSTIN-BESANÇON, FAUVERT, KLOTZ, BARBIER et HARTMANN (Paris) le firent connaître en France et confirmèrent en gros sa valeur.

D. MODIFICATIONS APPORTÉES A LA TECHNIQUE ORIGINALE

Le besoin d'une plus grande commodité, d'une précision accrue ou d'une spécificité plus étroite, a rendu nécessaires quelques modifications. Nous envisagerons respectivement et dans l'ordre celles

portant sur le choix du pH, les moyens de lecture, la floculation tardive, la préparation du Réactif.

1. *Le choix du pH.*

Tentés par les considérations de Mac Lagan, précédemment exposées, quelques auteurs ont eu l'idée d'abaisser légèrement le pH. C'est ainsi que les Américains Mateer et ses collaborateurs (1947) ont soutenu que la zone optima de pH se situe aux environs de 7,55, où la réaction se révèle plus sensible. C'est ce pH modifié qu'ont adopté, en France, Justin-Besançon, Fauvert et leurs collaborateurs (1947) et ultérieurement utilisé Fauvert et Hartmann (1950).

Cependant, Mac Lagan (1947) trouva que Mateer et ses collaborateurs (1947) enregistraient visiblement une proportion excessive de résultats négatifs, qu'il attribua à un abaissement de sensibilité de la méthode.

Latner et Pendlenton (1949) partagent, au contraire, l'avis des auteurs américains. Ils utilisèrent de pair les tampons à pH 7,8 et 7,55, et trouvèrent qu'avec ce dernier, la réaction est plus sensible et donne moins de « faux positifs » qu'à pH 7,8. Ils soulignèrent la quasi identité des forces ioniques des deux réactifs, mais par l'emploi de la technique bicolore de Hastings et Sendroy (1924) de mesure des pH ils enregistrèrent un chiffre de 7,65 pour le tampon 7,8 de Mac Lagan. Voici, d'après les auteurs, la composition du tampon à pH 7,55.

Véronal	1 gr. 518
Véronal sodique	0 gr. 927
Solution saturée de Thymol	500 cc.

2. *Les moyens de Lecture.*

On a utilisé des techniques de lecture visuelle, sujettes à de nombreuses causes d'erreur, qu'on tend peu à peu à remplacer par des techniques plus perfectionnées qui donnent des résultats plus précis, exacts et nuancés : les méthodes photoélectriques.

a. *Emploi de la gamme de* Mestrezat :

C'est la gamme néphélémétrique la plus communément utilisée en France. Elle ne correspond pas à la gamme de Kingsbury, et Vincent et Lagreu (1948) ont recherché le facteur de correction à utiliser pour passer des valeurs de la gamme française, à celles de la gamme anglo-saxonne et aux Unités Mac Lagan.

Dans la Méthode de Mestrezat, l'opacité est obtenue en ajoutant à 10 cm^3 d'une solution albumineuse de blanc d'œuf 1 cm^3 d'acide trichloracétique à 30 %. On peut préparer une gamme à chaud (5 minutes de Bain-Marie bouillant) et une gamme à froid (4 jours de contact). Les opacités obtenues avec ces deux procédés ne sont pas rigoureusement semblables. La précipitation est complète dans la gamme de Kingsbury à chaud et à froid, et dans celle de Mestrezat à chaud. La dilution de la solution albumineuse par le réactif, qui est de 10/2,5 dans l'échelle de Kingsbury, n'est plus que de 11/10 dans celle de Mestrezat. Donc, pour un même échan-

tillon de liquide albumineux, l'opacité sera plus forte dans la gamme française, et, dans le cas d'une précipitation complète, le rapport des intensités de trouble sera en raison inverse de celui des dilutions. Le facteur de correction est alors 3,6. Dans le cas de la gamme de MESTREZAT à froid, où la précipitation est incomplète, il n'est plus que de 2,6.

Si nous prenons comme exemple les valeurs normales limites de la réaction au thymol exprimées par la méthode de MESTREZAT, nous aurons :

Un trouble de 0,10 pour 1.000 de la gamme de Mestrezat à chaud correspond à un trouble de 0,36 pour 1.000 de celle de Kingsbury et à 3,6 U.M.L. Le trouble 0,15 de l'échelle de Mestrezat à froid équivaut à un trouble de 0,39 dans celle de Kingsbury et à 3,9 U.M.L.

b. *Emploi d'un spectrophotomètre :*

SHANK et HOAGLAND (1946) font deux reproches à la technique des étalons de KINGSBURY.

La gamme n'est pas facile à reproduire et sujette à des variations par vieillissement. Les auteurs ont préparé des étalons néphélémétriques avec des albumines de blanc d'œuf, de sérum bovin et humain respectivement, dont ils ont dosé la teneur par le Kjeldahl. En se référant à l'opacité lue au spectrophotomètre et aux quantités croissantes d'albumine, ils observent une relation linéaire, mais obtiennent non une droite unique, mais un faisceau de trois droites.

En présence d'un sérum hémolysé ou fortement chargé en bilirubine, les lectures peuvent être rendues difficiles.

Ces raisons les ont incités à utiliser le standard de WADSWORTH (1927) qui servait à mesurer le trouble de suspensions bactériennes. Dans leur méthode, la turbidité des réactions est exprimée en Unités dérivées d'une courbe standard préparée par l'emploi de suspensions de sulfate de Baryum.

Une suspension mère de SO_4 Ba est obtenue à 10°, grâce à 3 cm³ d'une solution 0,0962 N de Cl_2 Ba, 2 OH_2 que l'on complète à 100 dans un ballon jaugé par SO_4 H_2 N/5. La suspension est stable à cette température à cause des dimensions des particules précipitées.

1 cm³ 65 de SO_4 H_2 N/5 ajouté à 1 cm³ 35 de suspension mère donne un trouble étalon de 10 Unités.

0 cm³ 3 de SO_4 H_2 N/5 ajouté à 2 cm³ 7 de suspension mère développe un trouble étalon de 20 Unités.

Ces standards donnent des lectures équivalentes à celles de MAC LAGAN avec la gamme gélatine.

SHANK et HOAGLAND utilisèrent le spectrophotomètre Coleman Jr., cuve 10×75 mm. et λ : 650 m μ. La gamme minérale au SO_4 Ba les met à l'abri du premier reproche. La longueur d'onde choisie élimine dans les conditions de la Réaction l'influence possible de l'Hémoglobine et de la bilirubine du sérum. La gamme des valeurs s'étale de 0 à 35 Unités, les chiffres normaux étant compris entre 0 et 4,7.

Cependant, MAC LAGAN et BUNN (1947) trouvèrent, par l'emploi de cette méthode, des chiffres trop bas.

c. *Emploi d'un électrophotomètre :*

Les préférences des chercheurs français se sont portées sur ce

mode de lecture.

Vincent et Segonzac (1947) proposèrent une lecture de la réaction au photomètre de Meunier, après trente minutes (cuve de 1 cm., écran jaune 57, diaphragme 10).

L'éventail des valeurs se déploie de 0 à 450°, les valeurs normales étant situées entre 0 et 50°. Nous donnerons plus loin, dans notre partie expérimentale, la technique détaillée.

Vincent et Parant (1950), associés à Vergès (1950) ont donné une échelle nuancée de notation des résultats :

0 à 60 degrés Meunier :	Réaction négative.
60 à 100 degrés »	Réaction légèrement positive. . . . . +
Au-dessus de 100 »	Réaction positive. . . . . ++

On peut considérer les réactions donnant des chiffres supérieurs à 200 comme très positives +++.

D'autre part, Vincent et Lagreu (1948) ont indiqué qu'une Unité Mac Lagan vaut environ 20° Meunier, ou 8° Vernes.

Paget, Servantié et M^lle^ Jourdain (1947) ont exprimé l'intensité du trouble en chiffres de densité optique par l'emploi du photomètre de Vernes (écran Wratten rouge foncé α) avec l'usage du tampon thymol à pH 7,8. D'après M^lle^ Jourdain, 1 U. M. L. vaut environ 6 à 7° Vernes.

Justin-Besançon, Fauvert, et leurs collaborateurs (1947), utilisèrent le photomètre de Vernes, Jobin et Yvon (écran rouge Wratten N° 70, surcharge A à droite). Ils se servent d'une solution tampon thymol à pH 7,55 et d'une solution tampon identique, mais sans thymol. Leur réaction comporte deux tubes :

1 : Un tube contenant sérum et tampon thymolé (Test) ;

2 : Un tube avec sérum et tampon sans thymol (Témoin).

La différence des chiffres enregistrés dans les tubes 1 et 2 donne celui de la réaction.

Les densités optiques sont échelonnées entre 0 et 80° Vernes, celles comprises entre 0 et 10 étant considérées comme normales.

Des lectures faites dans ces mêmes conditions au photomètre de Meunier par Fauvert et Hartmann (1950), écran rouge, diaphragme 5, avec au besoin le secours de surcharges, donnent des chiffres normaux de 0 à 40, et pathologiques de 40 à 300° Meunier.

Les méthodes aux photomètres de Meunier et de Vernes sont, à notre connaissance, les plus utilisées en France. Cependant, le souci d'être complet nous incite à signaler deux autres modes de lecture.

Varay et M^lle^ Frantz (1949) se servent de l'électrophotomètre Lumetron et situent les valeurs normales entre 85 et 95 %, indiquant dans les ictères par Hépatite, un chiffre moyen de 52,3 %, et dans les obstructions, un chiffre normal de 90 %.

Enfin, dans un travail récent, Albot, Dieryck et Dupuy (1950) donnent leurs résultats en degrés Bonet-Maury, qu'ils trouvent sensiblement égaux ou peut-être un peu supérieurs aux degrés Vernes. Donc, une Unité Mac Lagan vaut approximativement 8° Bonet-Maury.

3. *La floculation tardive : « Thymol floculation Test ».*

En 1944**, Mac Lagan avait indiqué incidemment que, dans le

cas de sérums à « Thymol turbidity Test » positif, le mélange floculait après un repos d'une nuit. Il ne fit pourtant pas de ce fait une partie importante de son test.

Neefe (1946) et Neefe et Rheinhold (1946), à la suite d'observations extensives de ce qu'ils nommèrent « Thymol Floculation Test », le considérèrent comme une adjonction importante au test primitif.

Mac Lagan et Bunn (1947) reconnurent le bien-fondé de cette observation car, d'après ces auteurs, la floculation intervenant avec le sérum d'Hépatite ne se produit pas avec le sérum normal. Cette deuxième partie du test augmenterait donc sa spécificité.

On note la floculation après dix-huit heures, d'après l'échelle suivante :

Aspect inchangé du liquide	0
Floculation légère, liquide trouble	+
Floculation nette, liquide légèrement trouble	++
Floculation avec clarification complète du liquide surnageant	+++

4. *La préparation du Réactif.*

Il se développe dans le réactif, au bout d'environ deux semaines de conservation, un louche qui le rend inutilisable et qui est dû, comme on le sait, à l'abaissement de la solubilité du thymol au dessous de 20°. Pour pallier à ce fait, Anne Jourdain (1947) a proposé de conserver le flacon contenant le réactif en boîte métallique close et intérieurement garnie de coton cardé. Ce procédé lui assure de bons résultats.

A cet inconvénient dû à la conservation, qui rend obligatoires des renouvellements répétés du réactif, s'ajoute celui du mode de préparation qui donne des lots de réactifs pas toujours rigoureusement identiques, la concentration du thymol étant sujette à de légers changements. C'est probablement la raison pour laquelle la zone des chiffres normaux varie légèrement de Watson et Rappaport (1945) à Mann (1947) et à d'autres auteurs.

De la Huerga et Popper (1949) ont dosé le thymol dans 27 lots différents de réactif de Mac Lagan, grâce au réactif des phénols de Folin et Ciocalteu. Ils notèrent des concentrations extrêmes de 89 et 117 mgr. pour 100 cm³ de réactif, la valeur moyenne se situant à 102 mgr. De plus, par l'emploi de 4 sérums et de 7 lots différents de réactif, ils virent que l'intensité du trouble était proportionnelle à la concentration du thymol dans celui-ci.

A cause des faits ci-dessus, ces auteurs ont proposé un réactif de préparation rapide et facile, contenant toujours le même pourcentage de thymol (100 mgr.) et donnant, par conséquent, des lots de réactivité identique.

Il comprend deux solutions distinctes conservées dans deux flacons différents, et qu'on mélange pour l'emploi extemporanément.

Une solution à 10 % de thymol purifié dans l'alcool éthylique à 95° fournit la « Solution stock » permanente.

On constitue, d'autre part, d'après la technique de Mac Lagan, une « Solution tampon » barbiturique et sans thymol.

Pour préparer le réactif, dans un ballon jaugé de 100 cm³ facile-

ment bouchable, on ajoute à 80 cm³ de « Solution tampon », 1 cm³ de « Solution stock ». On dissout par une vigoureuse agitation de trente à soixante secondes, la mince couche huileuse de thymol qui s'est formée à la surface. On complète alors à 100 avec la « Solution tampon ». On ne doit pas voir de goutelettes huileuses dans le col du flacon.

L'analyse de 18 lots divers préparés à partir de trois solutions stock différentes, donna un chiffre constant : 100 mgr.

Les auteurs préconisent également une « solution tampon avec la demi-concentration de thymol ». Elle a l'avantage de se conserver plus longtemps à l'abri des moisissures. Elle est préparée de la même manière, dans un ballon jaugé d'un litre. L'addition de thymol est assurée par l'emploi de 5 cm³ de solution stock pour 1.000. Bien entendu, au moment de la préparation du réactif, on dilue alors 0,5 cm³ seulement de solution stock dans la « Solution tampon thymolée à demi-concentration ». On utilise à cet effet un ballon jaugé de 100. Les auteurs ont démontré que la présence de 1 % d'alcool dans le réactif est sans influence sur l'intensité du trouble.

Nous ne pouvons que signaler tout l'intérêt de cette technique.

5. *Le prélèvement du Sérum.*

A la suite d'un travail de Vincent et Ferret (1948) qui ont étudié l'influence de la digestion sur l'intensité de la réaction, nous pensons qu'il est primordial d'opérer sur du sérum prélevé à jeun. En effet, dans certains cas, la digestion peut influencer le trouble au point de positiver une réaction négative.

3. Réaction de KUNKEL.

Nous avons déjà vu, au cours de l'analyse électrophorétique du sérum des affections hépatiques, notamment dans les ictères par hépatite et les cirrhoses, le caractère net et constant de l'augmentation des γ globulines.

L'étude du mécanisme des Réactions de Hanger et de Mac Lagan, démontrera qu'elles rendent compte de modifications complexes de l'équilibre protidique et même lipido-protidique du sérum, et, le plus habituellement, d'une augmentation des γ globulines

Le besoin d'une technique simple et pratique de mesure de l'élévation de cette fraction se fit bientôt sentir. Kunkel (1947) proposa un méthode d'évaluation turbidimétrique. Jager et Nickerson (1948) préconisèrent une technique comprenant trois précipitations successives par le sulfate d'Ammonium à 33 %, suivies d'un dosage par l'emploi d'une réaction dérivée de celle du Biuret.

Les avantages de commodité, de simplicité et de précision de la Réaction de Kunkel ont dicté notre choix. Cette réaction a pour but essentiel l'estimation turbidimétrique des γ globulines sériques.

A. Considérations expérimentales

Le sérum dilué avec des solutions de sels de métaux lourds donne un précipité de protéines et, en faisant varier la concentration du sel, on fait varier la fraction de protéine intéressée. Il s'agissait donc, pour l'auteur, en opérant à un taux de dilution choisi : 1/60, d'obtenir

tration adéquate de ce métal, d'un pH et d'une force ionique optima.

1. *Sel métallique actif et concentration.*

1° En choisissant le SO_4Cu aux *concentrations les plus basses,* Kunkel précipite sélectivement les γ globulines et il en apporte une preuve électrophorétique. La construction d'une courbe en fonction de la concentration du sel et du pourcentage de protéines précipitées, lui a permis de choisir la concentration donnant le précipité minimum pour le sérum normal et un précipité abondant avec le sérum d'hépatite. En outre, l'auteur constata que la quantité précipitée est proportionnelle au taux des γ globulines et qu'on peut en évaluer la valeur par turbidimétrie. La précipitation s'effectue, en effet, en suspension diffuse de fines particules.

2° *Les sels de cathions divalents : Zinc, Mercure, Plomb, Cadmium et Uranium* exerçaient des effets similaires, et les courbes construites ressemblaient étroitement à celle réalisée avec le SO_4Cu. Notons, en passant, l'utilisation du $HgCl_2$ dans la Réaction de Gros, et du SO_4Cd dans la Réaction de Wunderly et Wuhrmann.

2. *pH et Force ionique.*

L'auteur s'aperçut *d'altérations dans l'action des solutions* de métaux lourds *pour de faibles changements de pH et de force ionique.* C'est la raison pour laquelle il a choisi un pH de 7,5 et une force ionique la plus basse possible, qui donnent un trouble faible pour le sérum normal, estimable pour le sérum d'hépatite, assurant ainsi la différence de turbidité maxima.

C'est ce qui a nécessité l'emploi de solutions tamponnées qui permet la conservation sans altération des Réactifs. Avantageux pour le SO_4Zn, il ne présente pas d'intérêt pour le SO_4Cu qui précipite déjà en présence de tampon.

B. Technique originale de Kunkel (1947)

1. *Réactifs.*

Pour la réaction au SO_4Cu, on utilise une solution contenant 23 mgr. pour 1.000 de SO_4Cu, 5 OH_2 dans l'eau distillée.

Pour la réaction au SO_4Zn, on opère avec une solution de SO_4Zn, 7 OH_2 à 24 mgr. par litre dans l'eau distillée, tamponnée à pH 7,5 par 280 mgr. de Véronal et 210 mgr. de Véronal sodique. La force ionique est de 0,01.

2. *Technique de la Réaction.*

Dilution au 1/60 : 0 cm³ 05 de sérum + 3 cm³ de réactif (soit SO_4Cu, soit SO_4Zn). Repos de trente minutes. Agitation, puis lecture.

3. *Moyens de Lecture.*

1° Au spectrophotomètre Coleman Junior à 650 mμ.

Le trouble produit est ensuite traduit en Unités en utilisant la courbe standard déjà décrite par Shank et Hoagland (1946) pour le « Thymol Turbidity Test ».

2° Le temps de floculation (en l'absence de l'autre moyen).

On a observé que les sérums à taux très élevé de globuline γ précipitent en quelques minutes. En gros, avec le Réactif au SO_4Zn, une floculation ne s'opérant pas dans les vingt-quatre heures indique un sérum normal, alors que réalisée dans les quatre heures, elle indique une légère augmentation de γ globuline dans un sérum pathologique.

4. *Interprétation des Résultats.*

Les valeurs normales se situent entre 2 et 8 Unités. Avec un taux de globuline supérieur à 6 %, Kunkel a observé des troubles de 80 Unités.

C. Valeur de la Réaction

Par l'étude d'un millier de sérums, Kunkel (1947) montra l'intérêt de ses réactions au Cuivre et au Zinc, notamment dans les cirrhoses du Foie (100 % de Positifs) et au cours des hépatites infectieuses. Avec Ahrens et Eisenmerger (1948), il confirma leur intérêt dans ces maladies de Foie, et Maher, Snell et Mann (1949) les utilisèrent dans le diagnostic différentiel des maladies hépato-biliaires.

La réaction fut étudiée en France par Varay et M^lle Frantz (1949), ainsi que par Vincent, Parant et Vergès (1950). Ces recherches confirment en gros sa valeur dans le diagnostic différentiel des Ictères et dans la Cirrhose.

D. Améliorations apportées a la Technique originale

Elles portent essentiellement sur le mode de lecture.

Varay et M^lle Frantz (1949) utilisent l'électrophotomètre Lumeron à λ : 650 m μ, et indiquent les mêmes chiffres normaux que Kunkel : soit 2 à 8 Unités. Demeulenaere et Wieme (1950) se servent du même type d'appareil, mais situent les résultats normaux entre 0 et 13 Unités. Maher et ses collaborateurs les situent jusqu'à 9,4 Unités (1949).

Vincent, Parant et Vergès (1950) emploient le photomètre de Meunier, filtre jaune 57, cuve de 1 cm., lecture après trente minutes. La limite supérieure des chiffres normaux est 120° Meunier pour le SO_4Zn et 150° Meunier pour le SO_4Cu. Il a été expérimentalement constaté que le trouble est légèrement plus faible pour le SO_4Zn que pour le SO_4Cu. Nous donnerons plus loin, en détails, cette technique que nous utilisons dans notre travail.

CHAPITRE III

Mécanismes

1. Réaction de HANGER.

Dans son premier travail sur la réaction, HANGER (1938) signale que la précipitabilité de son antigène est liée à une propriété spécifique de la céphaline. En effet, le cholestérol seul, ou additionné de lécithine, ne produit pas la floculation, alors qu'elle intervient avec le mélange céphaline-cholestérol. Le cholestérol a le double rôle d'orienter et de fournir le substrat à la céphaline.

Le fait suivant lequel le sérum de chien ou de chat en bonne santé donne des réactions positives, signalé par HANGER (1938), a été ultérieurement étendu au lapin (RECANT, CHARGAFF, HANGER 1945) et à tous les animaux de laboratoire, sauf le singe (VARAY, 1949). Il a restreint le champ des investigations au sérum humain.

Mécanisme :

Le premier agent floculant envisagé par l'auteur (1938) fut un *composé sérique azoté,* résistant une heure au chauffage à 56°, non touché par l'extraction au trichloréthylène, donc de nature non lipidique. Il l'identifia à une *globuline* (1939). D'après HANGER, la globuline, en se fixant sur les particules colloïdales du réactif, créait un changement de potentiel de surface et provoquait la floculation.

L'emploi de fractions de protéines pures isolées par électrophorèse, permit à KABAT, MOORE et LANDOW (1942) de trouver que la γ *globuline* était l'agent floculant actif. Nous avons déjà vu précédemment l'augmentation de cette fraction par rapport aux autres dans les maladies du Foie (GRAY et BARRON).

Les auteurs précités et HANGER (1943) constatèrent que cette fraction γ, isolée du sérum normal ou du sérum d'hépatite, possédait le même pouvoir floculant. Ils expliquèrent ce fait par la présence hypothétique dans le sérum normal *d'une substance inhibant la floculation.*

Cette hypothèse reçut un début de confirmation lorsque RECANT, CHARGAFF et HANGER (1945) réussirent à abaisser la positivité de la réaction d'un sérum d'hépatite par addition de sérum normal.

HANGER, MOORE, PIERSON et MOORE (1945) avaient déjà démontré avec des fractions électrophorétiques pures que la Sérum-albumine du sérum normal inhibait la floculation obtenue avec la γ globuline normale ou d'hépatite. La Sérum-albumine d'hépatite n'avait pas de pouvoir antifloculant. Ces mêmes faits furent confirmés, en 1945, par les mêmes auteurs, plus GUTTMAN et POTTER.

Jusqu'à présent, nous avons eu affaire à des données quantitatives ayant trait à l'importance relative des différentes fractions protidiques. L'introduction d'une donnée qualitative : présence du pouvoir inhibiteur dans la Sérum-albumine normale, absence dans la Sérum-

albumine pathologique, expliquerait la plus grande spécificité du test de HANGER.

MOORE, PIERSON et collaborateurs, ont « avancé l'hypothèse qu'une réaction positive résulte des altérations suivantes dans le sérum :

1° Présence de quantités excessives de γ globulines, en telle quantité, que les constituants normaux de la fraction Sérum-albumine sont insuffisants pour inhiber la réaction;

2° Abaissement de la fraction Sérum-albumine au-dessous des taux nécessaires pour inhiber la réaction;

3° Diminution des propriétés d'inhibition vis-à-vis de la floculation de cette fraction albuminique.

La positivité de cette réaction résulterait d'une combinaison de tous ces facteurs, particulièrement d'une modification de la fraction albumine ». VARAY (1949).

HANGER (1947) indique deux facteurs de positivité :

1. L'augmentation des γ globulines (non spécifique);

2. L'abaissement du pouvoir antifloculant de la Sérum-albumine (spécifique).

Nous n'avons pas vu, jusqu'à présent, de renseignemennts sur l'effet des globulines α et β. MAC LAGAN et BUNN (1947) se sont penchés sur le problème, plus particulièrement envisagé sous cet aspect.

Par l'étude des fractions séparées, ils ont remarqué que les γ globulines normales et d'hépatite réagissaient avec le réactif, et que la fraction $(\alpha+\beta)$ d'hépatite réagissait très fortement. La γ globuline d'hépatite était dix fois plus active que celle du sérum normal.

Ils réalisèrent aussi une étude des fractions combinées, dont nous résumons les résultats.

Dans le sérum normal, l'albumine inhibe la précipitation de la γ globuline, et les α et β globulines produisent une floculation plus rapide.

Dans le sérum d'hépatite, l'albumine inhibe encore la précipitation de la γ globuline, les $(\alpha+\beta)$ globulines* augmentent de manière marquée la sensibilité du test, mais l'albumine inhibe les fractions $(\alpha+\beta)$ dans la même proportion que celle requise pour inhiber la γ globuline.

AGENT FLOCULANT	INHIBITEUR	DIFFÉRENCES ENTRE SÉRUM NORMAL N ET SÉRUM D'HÉPATITE H
γ globulines. H $(\alpha + \beta)$ globulines.	Albumines.	H γ beaucoup plus active que N. N α et β non active.

(D'après MAC LAGAN et BUNN.)

Comme on le voit, ces résultats diffèrent sensiblement de ceux précédemment indiqués par MOORE et ses collaborateurs (1945). Ils montrent, en effet, un pouvoir de floculation plus grand des γ globulines de l'hépatite opposées aux γ globulines normales. De même,

(*) Cette fraction est naturellement active par elle-même dans le test.

quant à l'activité de floculation marquée des ($\alpha+\beta$) globulines d'hépatite. Ce fait n'avait pas été observé auparavant. Cependant, d'après Mac Lagan et Bunn, le taux d'inhibition ne rend pas compte des réactions négatives présentées par les sérums normaux. Pour ces auteurs, il est évident que les tests ne sont pas simplement sous la dépendance de la charge électrique de la protéine, mais aussi sous celle de différences dans la structure chimique.

En 1947, Hanger constata, dans des maladies du système réticulo-endothélial extra-hépatiques, telles que Mononucléose infectieuse, Paludisme chronique, Sarcomes de la Rate, Anémies hémolytiques, des C.C.F. tests positifs. Il remarqua, face à des valeurs électrophorétiques et à une globulinémie normales, une seule anomalie : la précipitabilité élevée des globulines.

D'autre part, en 1948, Dauphinee et Campbell semblent avoir décelé, dans le sérum d'hépatique, une globuline anormale, floculant facilement, « la 13,5 % Fraction », ainsi nommée parce qu'elle précipite par une solution de SO_4Na_2 à ce taux. C'est probablement la même fraction qu'a individualisée Laudat, en 1950, grâce à une solution du même sel anhydre à 14 % et qu'il nomme « Globuline 14 ». Fait remarquable, cet auteur décèle des taux anormaux de celle-ci dans les hépatites et les cirrhoses, d'une part, et, d'autre part, dans tous ses cas de Para B, Nicolas-Favre, Leucémie aiguë, Paludisme, Mononucléose et Myélome à Hanger positif.

Il est dès lors possible d'envisager comme une quatrième possibilité de test positif, la présence d'une globuline anormale hépatique et le travail de Laudat plaide en faveur de la participation hépatique dans ces maladies extrahépatiques.

2. Réaction de MAC LAGAN.

Il ressort des considérations expérimentales de Mac Lagan* et ** (1944) que le pouvoir de développement du trouble dans le sérum observé dans le « thymol test » est une propriété de la fonction phénol. Parmi les corps qui donnent l'opacification la plus nette figurent, en effet : le phénol et ses homologues supérieurs : Crésols, Xylénols, Carvacrol, Thymol ; le Naphtol α et 2 diphénols : Hydroquinone et Résorcine. Cette propriété n'est d'ailleurs pas strictement spécifique et on connaît l'emploi de la Réaction de Vernes à la Résorcine qui a pour but le dépistage des états infectieux chroniques. Quoique Barbier (1948) ait signalé, parmi ses sérums à Thymol positif de nombreux cas à Vernes-Résorcine positif, il ne semble pas qu'il y ait une relation entre les deux Réactions. C'est l'opinion de Badin et Choukron (1950) qui, pratiquant les deux tests chez des femmes enceintes et dans les suites de couches, trouvent une nette dissociation. D'ailleurs, d'après Bricq, Gager et Lacapère (1948), la substance sérique précipitée par la Résorcine se retrouve quasi totalement dans la fraction albuminique de relargage du sérum par le Sulfate d'ammonium.

D'autre part, à l'encontre de la Réaction de Hanger, le test de Mac Lagan est négatif avec le sérum d'animaux de laboratoire sains, tels que chien et lapin (Recant, Chargaff, Hanger 1945), ce qui permet d'étudier la réaction sur les sérums animaux. C'est ainsi que Carey,

Mac Cord, Sterner, Kline et Williams (1946) ont pu suivre chez le rat et le lapin les progrès d'une hépatite expérimentale réalisée par inhalation de vapeurs de CCl_4.

Mécanisme :

A. Les premières constatations de l'Auteur

L'analyse du précipité de réactions positives et des considérations sur le parallélisme de certains faits, ont amené Mac Lagan à envisager le rôle des *globulines,* plus particulièrement des γ *globulines,* dans son test.

Le précipité, soigneusement séparé du liquide surnageant, révéla à l'analyse élémentaire les valeurs moyennes suivantes : N : 6 %, P : 0,33 %, Thymol : 32 %, Cholestérol : 11,8 %. Redissous dans la soude N/100, il fut relargé par addition de Sulfate d'Ammonium au tiers de saturation. Ce dernier caractère incita l'auteur à mettre en cause la Sérum-globuline et à penser qu'il avait affaire à un complexe globuline-thymol-lipoïde dont il put établir la composition moyenne comme suit :

Protéine : 37,5 %, Thymol : 32 %, Cholestérol (1/2 estérifié) : 16,5 %, Phospholipide (exprimé en lécithine) : 8 %.

Le fait que, dans la moitié des cas positifs, les taux de Sérum-globuline étaient au-dessus de la normale, confirma son point de vue.

La nature de son réactif lui suggéra, en outre, une analogie avec le « Pandy test », pour la globuline du L.C.R., qui utilise une solution saturée de phénol. Mac Lagan, qui avait déjà constaté le parallélisme clinique entre son test et celui de l'Or colloïdal, ne pouvait manquer de remarquer le parallélisme chimique entre ce dernier et le « Cephalin-Cholesterol Floculation Test ». Gray (1942) avait en effet, démontré la part active de la γ globuline dans la précipitation du réactif à l'Or. Kabat, Moore et Landow (1942), associés à Hanger (1943), avaient fait la même constatation, à la fois dans le test de Gray et dans le test de Hanger.

Si l'on rapproche ces faits de celui observé par Gray et Barron (1943) et déjà cité, selon lequel la γ globuline est augmentée de manière constante dans les hépatites et les cirrhoses, où le « thymol test » est positif, on comprend que, pour toutes ces raisons, Mac Lagan ait incriminé celle-ci comme agent responsable du trouble dans sa réaction. Il expliqua alors la positivité du test par une affinité spéciale du groupe phénolique vis-à-vis de la γ globuline, dans les conditions où il est pratiqué.

B. Les recherches ultérieures

Recant, Chargaff et Hanger (1945) firent porter leurs investigations à la fois sur du sérum et sur des fractions protéiques séparées par électrophorèse.

Leur premier matériel de travail fut du sérum d'hépatite à thymol test positif. Voici leurs constatations :

Un sérum d'hépatite auquel on ajoute une quantité égale de sérum normal, ne voit pas l'intensité de la réaction baisser.

Ce sérum délipidé par l'éther à froid (Technique de Mac Farlane) fournit une réaction négative ou faiblement positive, la congélation

du sérum seule n'ayant par elle-même aucune influence.

On réussit à restaurer la positivité, par adjonction au sérum délipidé, soit de sérum normal, soit d'émulsions aqueuses de céphaline, de lécithine, de cholestérol, soit de lipides extraits d'un sérum normal ou d'hépatite. On n'arrivait pas à ce résultat par addition de sérum normal délipidé au préalable.

Les lipides normaux du sérum s'avéraient donc nécessaires à la floculation, mais ils ne suffisaient pas, car testés seuls, ils donnaient des réactions négatives.

Cependant, une tentative pour provoquer des réactions positives avec des albumines et des γ globulines pures séparées par électrophorèse de sérums normaux ou pathologiques, se solda par un échec, même après addition de lipides. Les auteurs considérèrent donc les γ globulines comme insuffisantes à provoquer le trouble, même additionnées de lipides.

Mac Cord (1945), opérant sur des solutions de γ globulines pures, n'eut pas plus de succès.

C'est alors que Mac Lagan avec Carter (1946) confirma le résultat de ses premières recherches, et qu'Hanger (1946) indiqua, dans une brève communication, que la γ globuline était l'agent précipitant actif avec les phospholipides comme adjuvant essentiel.

Kunkel et Hoagland (1947) arrivèrent à des conclusions quasi identiques, grâce à un procédé ingénieux.

L'analyse électrophorétique des protéines du précipité délipidé leur indiqua surtout des β et des γ globulines. Utilisant ensuite du sérum normal qu'ils additionnent de γ globulines, ils arrivèrent, dans quelques cas, à positiver la réaction. Par extraction des γ globulines d'un sérum fortement positif, ils la négativèrent. La présence de β globulines dans le précipité s'expliquait facilement par leur rôle de transporteur des lipides circulants démontré par Blix, Tiselius et Svensson (1941).

Les travaux de Cohen et Thompson (1947) ont apporté cependant une note discordante. Ils pratiquèrent l'électrophorèse de sérums avant et après traitement par le réactif au thymol et interprétèrent leurs résultats comme indiquant que la β globuline est l'agent actif. En outre, comme ils ne notèrent qu'une légère augmentation de cette fraction dans les sérums positifs, ils suggérèrent la possibilité d'un changement qualitatif de la β globuline.

Il faut cependant considérer que ces auteurs ont conduit leurs électrophorèses à pH 8,6. Or, Hanger, Moore, Pierson et Moore, dans un travail sur le céphalin-cholestérol test (1945), ont démontré que la γ globuline séparée à ce pH est dépourvue du pouvoir de floculation qu'elle possède quand isolée à pH plus bas. De plus, Mac Lagan et Bunn (1947) leur ont reproché de ne pas s'être placés dans les conditions de la réaction. Ils ont indiqué que les résultats ainsi obtenus ne s'appliquaient donc pas forcément au « Thymol turbidity test » tel qu'on le réalise. En effet, Cohen et Thompson ont ajouté seulement 2 volumes de réactif au thymol à 1 volume de sérum pour précipiter; la dialyse effectuée ultérieurement se faisant face à 20 ou 25 nouveaux volumes de réactif. Or, comme on le sait, le test de Mac Lagan est pratiqué avec 60 volumes de réactif et 1 volume de sérum.

L'important travail de Mac Lagan et Bunn (1947) est venu apporter quelque lumière dans cet ensemble de faits contradictoires, et révéler un fait nouveau. Il avait pour but de contrôler les considérations initiales du premier nommé et d'élucider le rôle des α et β globulines. Riches des enseignements précédents, les auteurs utilisèrent pour leur électrophorèse le pH 8,0, celui-ci se trouvant dans la zone de stabilité des protéines sériques, telle que définie par Svedberg et Sjögren (1930).

Dans une étude des fractions séparées, ils remarquèrent que le trouble obtenu, avec la γ globuline et le tampon thymol, était très faible. La présence de phospholipides dans le précipité de réactions positives sur sérum entier, le rôle essentiel joué par ceux-ci dans la réaction d'après certains auteurs, leur fournit une orientation. En effet, par l'addition de lécithine ou de céphaline aux fractions avant la réaction, l'intensité du trouble obtenue fut décuplée avec les γ globulines normales, et multipliée par 12 pour celles d'hépatite. Ils conclurent au rôle essentiel des phospholipides dans la réaction. On peut expliquer par cette expérience les insuccès de Recant, Chargaff, Hanger (1945) et Mac Cord (1945).

Mac Lagan et Bunn réalisèrent donc ultérieurement, de concert, l'étude du « Thymol turbidity test » et d'un « Thymol-cephalin turbidity test » sur les mélanges de fractions protéiques électrophorétiquement pures.

Dans le sérum normal, l'albumine inhibe le « Thymol-cephalin » (fait nouveau) les α et β globulines produisant, au contraire, un léger accroissement de sa sensibilité.

Dans le sérum d'hépatite, l'albumine n'inhibe pas le « Thymol-cephalin » et augmente légèrement la sensibilité du « Thymol test ». Les (α+β) globulines, sans effet marqué sur le « Thymol-cephalin », accroissent nettement la sensibilité du « Thymol test », ce qui peut d'ailleurs facilement s'interpréter à cause du contenu lipidique de cette fraction.

Intéressante sur les fractions électrophorétiques pures, l'addition de céphaline ne présenta pas d'intérêt pour les sérums entiers. Une étude ultérieure de Mac Lagan (1948) confirma ce point de vue. La quantité de phospholipides naturels existant habituellement dans le sérum est donc suffisante pour assurer le trouble maximum.

Quant au « Thymol floculation test » de Neefe (1946), les auteurs remarquèrent que les γ globulines d'hépatite, seules ou en combinaison, produisaient la floculation, celles issues de sérum normal étant sans effet, aussi bien avec le « Thymol test » qu'avec le « Thymol-cephalin ». Aucune des autres fractions provenant d'un sérum d'hépatite ne donnait d'inhibition. Les fractions de sérums normaux ne purent, malheureusemnt, être testées. Cette floculation, en quelque sorte sélective des γ globulines d'hépatite, est la raison profonde de l'intérêt de ce test complémentaire.

TEST	AGENT FLOCULANT	INHIBITEUR	DIFFÉRENCE ENTRE SÉRUM NORMAL N ET SÉRUM D'HÉPATITE H
Thymol. Cephalin. Turbidity.	γ globulines.	N albumine	H γ légèrement plus active que N. H albumine non inhibitrice.
Thymol. Cephalin. Floculation.	H γ globuline seule.	Aucun démontré (N fractions non testées).	N γ globuline non active.

(D'après Mac Lagan et Bunn.)

Résumons ces résultats :

Les phospholipides naturels sont essentiels dans la réaction qui en dépend en premier lieu. Blix, Tiselius et Svensson (1941) ont démontré qu'ils étaient associés uniquement et en majeure partie aux α et β globulines, et qu'ils manquaient dans les fractions γ pures. Tout en expliquant bien des erreurs et insuccès antérieurs, ce fait éclaire le rôle des β globulines, charnière entre les phospholipides et les γ globulines.

La γ globuline est l'unique fraction active, même seule, et assure la positivité.

Alors que l'albumine normale inhibe la réaction, rendant compte des réactions négatives des sérums normaux, l'albumine et les fractions α et β d'hépatite ont un effet sur le test.

Seules les γ globulines d'hépatite permettent la floculation.

L'addition de céphaline au sérum entier étant sans incidence sur le résultat obtenu, on peut penser que le « Thymol Test » est sous la dépendance de ce mécanisme.

Des recherches récentes de Martin ont confirmé cette manière de voir quant aux facteurs d'inhibition et de floculation. En 1948, cet auteur utilisant un sérum d'hépatite titrant 18 U.M.L. y décèle par l'électrophorèse, 2 pics majeurs de β et γ globulines. A la fraction ($\beta+\gamma$) séparée, qui donne un thymol positif, il ajoute de l'albumine soit humaine, soit bovine, soit équine. Il rend compte ainsi, dans les trois cas, d'un égal effet inhibiteur de l'albumine, qui est fonction de sa concentration dans le système testé, et des réactions négatives observées chez l'homme et les animaux normaux. Il confirme, en 1949, grâce à neuf sérums à Index thymolé positif, où il trouve des γ globulines toujours augmentées jusqu'à 2 à 5 fois la valeur normale, le pouvoir floculant de la γ globuline.

CONCLUSION DES MECANISMES

En 1945, Hanger a défini une « γ globuline absolue », qui est la γ globuline totale décelée par électrophorèse, opposée à une « γ globuline active » qu'il individualise comme la portion de cette fraction non inhibée par le contenu de la fraction électrophorétique albuminique, et seule libre de se combiner au réactif et capable de précipiter. Présente en petite quantité dans le sérum normal, en grande

quantité dans les sérums hépatiques, elle explique la positivité du test. Cette quantité définie se combinerait à des quantités définies de céphaline et de cholestérol et le titrage des Unités cholestérol de Saifer (1950), extrapolant le taux de cette « γ globuline active », est de ce fait une méthode sensible et fidèle. La quantité minime de ce composé existant dans le sérum normal explique que pour celui-ci on ne trouve pas dans cette méthode des valeurs d' « Unités cholestérol » égales à 0.

Cette notion est riche de sens puisqu'en élargissant les notions de « globuline active » et de « fraction antifloculante », Mac Lagan et Bunn (1947) ont pu définir, en fonction des diverses valeurs électrophorétiques des fractions protéiques, une « Floculating Activity » pour le sérum normal et le sérum d'hépatite dans la Réaction à l'Or colloïdal, qui rend compte des réactions positives et négatives.

La clef du mécanisme est probablement là.

3. Réaction de KUNKEL.

Nous avons précédemment indiqué que la positivité de la Réaction est sous la stricte dépendance de l'élévation des γ globulines sériques. Il s'agit donc de prouver d'abord que la γ globuline est le facteur entrant en jeu, et, ultérieurement, que les autres fractions sériques ne l'influencent pas.

1. *La γ globuline est-elle la fraction active ?*

Kunkel (1947) réalisa l'analyse électrophorétique du précipité isolé de réactions positives (4 sérums), redissous dans un tampon. Il constata que le précipité était constitué en majeure partie par de la γ globuline accompagnée de petites quantités d'autres fractions, entraînées dans la floculation par la γ globuline en excès. L'électrophorèse de nombreux sérums donnant des valeurs diverses de trouble avec les Réactifs au SO_4Cu et au SO_4Zn révéla, d'autre part, une relation stricte entre l'intensité de la Réaction et l'augmentation absolue de la γ globuline. Ce fait fut ultérieurement confirmé sur 10 sérums, grâce à la même méthode, par Varay et M^lle^ Frantz (1949).

Deux auteurs belges, Demeulenaere et Wieme (1950), comparant les relations linéaires obtenues en fonction du trouble en Unités et de la concentration en γ globulines pour cent, sur du sérum et sur des solutions de γ globulines électrophorétiquement pures, constatèrent la similitude des deux droites obtenues. Il y avait donc une forte présomption pour que la réaction ne dépende que d'un seul facteur et ne soit pas influencée par d'autres.

2. *L'influence possible des autres facteurs.*

1° *Facteur Albumine.*

Kunkel (1947), soit en ajoutant de l'albumine à un sérum positif (« In vitro »), soit en injectant de larges quantités concentrées de ce composé à des malades atteints de maladies de Foie (« In vivo »), obtint une légère chute de l'intensité de la Réaction. Demeulenaere et Wieme, opérant sur des solutions à concentration variable de γ globuline pure et à concentration constante d'albumine, constatè-

rent jusqu'à un taux de 2 % de γ globulines une influence minime de l'albumine. Au-dessus, une légère correction s'impose.

Pour les auteurs belges, en présence de quantités physiologiques d'albumine, la réaction est un reflet fidèle de la concentration des γ globulines sériques.

Enfin, KUNKEL constata, qu'en présence d'une hypoalbuminémie (Cas des Néphroses), la réaction n'est pas rendue positive.

2° *Facteurs globuline α et β.*

KUNKEL, avec des sérums à taux élevé de lipides et de β globulines, ne trouva pas la réaction au SO_4Cu positive.

DEMEULENAERE et WIEME, en suscitant expérimentalement chez le lapin une augmentation des α et β globulines, contrôlée par électrophorèse, n'obtinrent jamais de réaction au SO_4Zn positive. Par contre, une surinfection provoquée des voies biliaires de cet animal, rendit la réaction positive, phénomène que les auteurs attribuèrent à une augmentation des γ globulines due à l'infection.

La Réaction de KUNKEL est donc une réaction rendant compte quantitativement de l'augmentation absolue des γ globulines sériques.

CHAPITRE IV

Les réactions Sérologiques Hépatiques en Clinique

I. Maladies hépatiques.

En clinique hépatique, le médecin fait appel aux réactions biologiques pour leur demander des renseignements de valeur diagnostique et pronostique.

La valeur diagnostique de ces réactions présente un triple intérêt :

1° La différenciation des Ictères :

On distingue :

L'ictère par obstruction des voies biliaires extrahépatiques, nommé « Ictère par obstruction ou par rétention », qui relève du traitement chirurgical.

« L'ictère par hépatite ou Hépatite ictérigène », qu'il faut respecter chirurgicalement.

Il s'agit, en d'autres termes, de poser ou d'écarter le diagnostic d'Ictère chirurgical. Les deux variétés d'ictère étant justiciables de thérapeutiques très différentes, on conçoit tout l'intérêt de ce diagnostic.

2° Le diagnostic des cirrhoses et des hépatomégalies (néoplasmes, etc...).

3° Le diagnostic des troubles dyspeptiques, classés sous l'étiquette générale de « petite Insuffisance Hépatique ». Ce diagnostic, une fois assuré, permet de traiter avant l'apparition de lésions irreversibles.

La valeur pronostique des réactions sera surtout mise à contribution pour contrôler l'évolution des hépatites ictérigènes. On conçoit sans peine l'intérêt de ce pronostic qui permet de connaître la gravité de l'atteinte, son évolution, l'influence du traitement, et de contrôler la guérison.

En regard de ces faits cliniques, une revue analytique des réactions nous permettra de mettre en lumière leurs avantages et leurs défaillances. Nous verrons ensuite si les avantages d'une technique ne peuvent point pallier aux défaillances d'une autre, ce qui nous amènera à l'emploi simultané de plusieurs réactions.

A. Etude analytique des différentes réactions

1° *La Réaction de* Hanger.

a) Dans les Ictères :

Valeur diagnostique :

Hanger (1938) signala dans sa première publication 100 % de

positivité forte dans 17 cas d'hépatite et d'ictère catarrhal, 12 % de positivité faible (2 réactions +) dans 17 cas d'ictère par obstruction. En 1939, il confirma en gros ces résultats et appliqua la réaction au diagnostic différentiel des ictères.

Nous avons cependant, déjà indiqué que POHLE et STEWART (1941) trouvèrent 97 % de positivité dans l'hépatite infectieuse, et 78 % dans l'ictère par obstruction. Nous avons vu que plusieurs causes d'erreur se sont glissées dans leur travail, dues à la préparation de l'antigène et à la photosensibilité. Nous avons noté que, dans leurs statistiques, se glissent de nombreux cas d'ictère par rétention à évolution prolongée (plus d'un mois), où l'insuffisance hépatique avait pu s'installer. KIRSCHNER et GLICKMANN (1943) donnèrent des chiffres moins discordants : 66 % dans l'hépatite infectieuse, 17 % dans les ictères par rétention.

Les discordances des auteurs américains se retrouvent à une échelle bien moindre chez les auteurs français. En effet, c'est seulement en 1947, que VINCENT et SEGONZAC ont fait connaître la technique de la réaction en France et, en 1948, que VARAY et COSTIL l'ont étudiée en clinique. A cette date, les auteurs français ont profité de la nouvelle réaction, de la connaissance des facteurs de fausse positivité et des divers moyens donnés pour atténuer son excès de sensibilité. VARAY et COSTIL (1948-1949), se basant sur l'expérience de nombreux sérums, la trouvèrent positive dans les ictères par hépatite, l'hépatite anictérique, et franchement négative dans les obstructions. La réaction étant, en outre, confirmée par la clinique et différentes épreuves de laboratoire (galactosurie provoquée, bilirubinémie, sels biliaires et cholestérol sanguins, phosphatase), ils lui accordèrent une très grande valeur diagnostique. BARBIER (1948) trouva le test franchement positif dans l'hépatite ictérigène (38 cas) et négatif dans les rétentions (4 cas). Cependant, quoiqu'enregistrant des résultats assez tranchés, BÉNARD et collaborateurs (1949) insistèrent sur l'imprécision des limites physiologiques de la réaction, et DELORE, BRUN et ROCHETTE (1949) ne lui accordèrent qu'un intérêt diagnostique minime ne permettant pas le diagnostic différentiel. JUSTIN-BESANÇON, DEBRAY, CORNET et BARBIER (1950) attribuèrent au test un net intérêt diagnostique, à condition de le pratiquer précocement, afin de pouvoir clairement interpréter les résultats. Il semble donc qu'une réaction franchement positive signe l'hépatite, et une réaction ± ou +, obtenue dans les trois premières semaines de l'affection, la rétention.

Valeur pronostique :

Dans l'ictère par rétention reconnu, VARAY et COSTIL (1948), JUSTIN-BESANÇON, DEBRAY et collaborateurs (1950), détectèrent et mesurèrent, par des réactions répétées, la participation hépatique ultérieure.

Dans l'ictère par hépatite, cette valeur est grande. HANGER (1939) signala qu'une réaction fortement positive d'emblée, ne s'atténuant pas, malgré l'amélioration apparente de l'ictère, est d'un mauvais pronostic et indique la dégénérescence progressive du foie. Pour cet auteur, l'intensité même de la réaction a une valeur pronostique, et la positivité disparaît avant la fin de l'ictère dans les atteintes

bénignes. Havens et Marck Ruthe (1946) dans l'hépatite expérimentale, Varay et Costil (1948-1949) purent constater la précocité de la réaction qui s'avère parfois très positive dans la période préictérique (++++). Elle fut d'autant plus positive que l'hépatite était plus marquée. La positivité décroît légèrement en fin d'ictère (+++), mais peut persister très atténuée (++) longtemps au cours de la convalescence, ce qui incite à une particulière prudence. Rosenberg et Soskin (1941) n'ont pas trouvé de dissociation avec les autres épreuves biologiques et considèrent le test comme un des meilleurs.

Pohle et Stewart (1941), Clay et Moore (1942) ont insisté sur les réactions répétées pour le pronostic.

Cet intérêt pronostique est cependant diminué du fait des taux de positivité élevés pendant tout le cours de la maladie. C'est là que la modification de Saifer peut se révéler d'une grande utilité.

b) Dans les cirrhoses :

Intérêt diagnostique :

Barbier (1948), Justin-Besançon, Debray et collaborateurs (1950) trouvèrent la réaction précocement positive dans la période préascitique.

Intérêt pronostique :

Hanger et Patek (1941), dans 40 cas de cirrhose, constatèrent dans un lot de 17 malades présentant des réactions fortement positives de manière persistante : 12 décès, 4 états précaires, un seul malade amélioré. Dans 11 cas, avec des tests négatifs ou légèrement positifs, 3 décès et 8 améliorations très sensibles se produisirent. Enfin, dans 12 cas aux tests progressivement décroissants, ils observèrent 3 décès et 9 améliorations. Varay et Costil (1948) jugèrent le degré de l'atteinte parenchymateuse par l'intensité de la réaction, et purent suivre l'évolution et l'action du traitement par des réactions répétées. Enfin, pour Bénard et collaborateurs (1948), une réaction fortement positive est d'un mauvais pronostic.

c) Dans les autres cas d'atteinte hépatique :

Chez les dyspeptiques ou « Petits Insuffisants Hépatiques », Barbier trouva la réaction sensible pour le diagnostic, sans qu'elle dépasse pour cela les autres tests biochimiques habituels. Varay et Costil (1948) enregistrèrent quelques réactions légèrement positives (0, +, ++).

Chez les alcooliques, ces auteurs trouvèrent des résultats variables (0, +) et attribuèrent à la réaction une valeur pronostique. Bénard et collaborateurs (1949) indiquèrent des intensités semblables, ainsi que Delore, Brun et Rochette (1949) (+, ++, +++), qui assurèrent que, dans ces circonstances, « ce test prend la valeur du signe d'alarme et révèle une altération latente et discrète du Foie ». Rosenberg avait déjà signalé, en 1941, que les atteintes hépatiques subcliniques sont plus fréquentes qu'on ne le croit et l'avait confirmé cliniquement et par d'autres méthodes de laboratoire.

Enfin, dans les lésions focales hépatiques, telles que cancer ou

abcès, HANGER (1938) trouva rarement des cas positifs (2 cas +++ et ++++ sur 9 néoplasmes). VARAY et COSTIL (1948) trouvèrent sur 3 cas des résultats moyennement positifs (++).

Avec ROSENBERG et SOSKIN (1941), nous insisterons sur l'intérêt, ici, de la valeur diagnostique précoce de la réaction.

2° *La Réaction de* MAC LAGAN.

a) Dans les ictères :

Valeur diagnostique :

Dans ses statistiques, MAC LAGAN (1944) compta en % de positivité :

91 % dans 134 cas d'hépatite infectieuse (120 positifs chiffre moyen : 10,3 U.M.L.) ;

52 % dans 23 cas de Maladie de Weill : Spirochètose (moyenne : 5,1 U.M.L.) ;

47 % dans 32 cas d'ictère arsénical (moyenne : 5,1 U.M.L.).

Dans 38 cas d'ictères par rétention, l'auteur enregistra seulement 3 cas légèrement positifs, soit 7,7 %. Il accorda à la réaction au thymol une spécificité hépatique supérieure à celle de la réaction de GRAY et souligna son intérêt possible dans le diagnostic différentiel des ictères.

MAIZELS (1946), par l'observation de résultats négatifs dans les rétentions, constamment positifs dans l'hépatite toxique, moins constamment dans l'ictère catarrhal; aux Etats-Unis, SHANK et HOAGLAND (1946), avec 100 % de positivité dans l'hépatite toxique et 82 positifs sur 83 cas d'hépatite infectieuse, confirmèrent cette manière de voir.

L'année 1947 vit l'introduction de la réaction en France et l'éclosion simultanée d'une série de nouveaux travaux confirmatifs. Nous citerons les recherches de VINCENT et SEGONZAC (1947), qui obtinrent des résultats très positifs dans les ictères infectieux et dans la spirochétose. L'intérêt diagnostique, également signalé par FAUVERT, fut confirmé expérimentalement par le même auteur, associé à JUSTIN-BESANÇON, KLOTZ et BARBIER. M^lle^ JOURDAIN, dans son travail de thèse, obtint 13 réactions positives sur 14 cas d'ictère par hépatite et 2 légèrement positives sur 10 cas de rétentions néoplasiques et lithiasiques. L'évolution clinique et d'autres examens n'infirmèrent pas cette dernière constatation.

Des résultats conformes aux notions déjà établies, furent rapportés ultérieurement, en 1948, par DARNAUD, FERRET, SOUQUET et DENARD et, en 1949, par VINCENT et GIRARD, DELORE, BRUN et ROCHETTE. CUNNAC (1949), dans sa thèse, observa 100 % de positivité dans 20 cas d'hépatite, 0 % dans 11 cas d'obstruction. Récemment, VINCENT, PARANT et VERGÈS (1950), comparant les résultats de la réaction de MAC LAGAN avec ceux de la réaction de KUNKEL, ont rapporté les mêmes pourcentages pour 23 hépatites et 17 rétentions.

DARNAUD, BIMES et collaborateurs (1948), en clinique et dans la cholostase expérimentale du chien, trouvèrent la réaction normale, même dans les cas de rétention à un stade avancé. Pour CUNNAC (1949), les vieilles lithiases donnent des réactions négatives et, dans

le cas d'une cholostase très prolongée qui perturbe la réaction, l'altération est très légère.

Nous pouvons donc, avec Mac Lagan et Maizels, faire du « Thymol Test » une épreuve de choix dans le diagnostic différentiel des ictères, où la réaction se révèle fidèle quoique non infaillible.

Valeur pronostique :

Justin-Besançon et ses collaborateurs (1947), grâce à l'usage de réactions répétées, eurent la possibilité de suivre la régression de l'ictère catarrhal.

L'intensité de la réaction est-elle proportionnelle à celle de l'atteinte hépatique ? La coïncidence de réactions faibles dans les ictères infectieux bénins, fortes dans l'hépatite aggravée, incita M^lle^ Jourdain à pencher vers l'affirmative. Par des réactions répétées, elle vit l'intensité maxima obtenue à l'acmé de l'ictère baisser progressivement et les signes cliniques s'amender simultanément. Vincent, Segonzac et Ferret (1948) virent la réaction croître parallèlement à l'ictère et « régresser » avec lui, et préférèrent cette réaction à l'*Icterus Index* pour suivre l'évolution. A leur avis, l'intensité du test n'implique pas un mauvais pronostic. Avec Mac Lagan et M^lle^ Jourdain, ces auteurs constatèrent que la réaction reste parfois fortement perturbée, même après la fin de l'ictère. C'est aussi la répétition des réactions qui permit à Barbier (1948) la réalisation de courbes rapidement descendantes dans l'ictère bénin, toujours ascendantes dans l'ictère grave.

Au contraire, pour Cunnac (1949), la réaction n'a aucune valeur pronostique, et la forte intensité du trouble est plus en rapport avec le « caractère congestif massif de l'hépatite qu'avec la malignité de la lésion anatomique ». C'est aussi l'opinion de Albot, Dieryck et Dupuis (1950). On expliquerait ainsi les positifs forts de l'ictère catarrhal bénin et les réactions moins fortes obtenues dans des ictères graves.

Cependant, ces derniers auteurs signalèrent qu'un chiffre de trouble positif, mais relativement faible, enregistré au cours d'un ictère par hépatite cliniquement intense, constitue un « signe fidèle de gravité ». Les ictères graves de leurs observations XXIII et XXIV, qui donnèrent respectivement des troubles de 40 et 55° Bonet-Maury au Mac Lagan, évoluèrent rapidement vers la mort.

M^lle^ Jourdain avait déjà constaté, en 1947, dans une hépatite grave, un thymol test négatif, rapidement suivi d'une aggravation clinique. Elle enregistra, en outre, simultanément, une hypocholestérolémie marquée (0,90 pour 1.000), puis constata, ultérieurement, un cholestérol à 0,32 pour 1.000 coïncidant avec la disparition presque complète des lipides sériques. On peut rapprocher ces faits de la coexistence de l'effondrement de l'index thymolé et du taux des lipides sériques observé par Bernard et Paget dans la phase avant-terminale des ictères graves. A la lumière de ces données, le rôle indispensable des lipides sériques dans la positivité du test étant d'autre part connu, la chute du « Thymol Test » semble donc s'expliquer par cette délipidation pathologique.

En gros, on peut donc, par des réactions répétées, suivre l'évolu-

tion de l'atteinte parenchymateuse. L'effondrement brusque du test sera d'un mauvais pronostic.

b) Dans les cirrhoses :

Intérêt diagnostique :

Mac Lagan observait 100 % de positivité dans cette affection et des taux plus élevés que dans l'hépatite. Vincent et Segonzac (1947) observèrent, dans la plupart des cas, des réactions positives, mais moins intensément que dans les ictères infectieux ou toxiques. Ces auteurs notèrent des cas faiblement positifs ou négatifs. Pour le diagnostic entre cirrhoses et cancer du foie, ils indiquèrent l'utilité de la réaction qui se révèle négative dans la deuxième affection. Barbier (1948) enregistra 8 réactions positives sur 14 cas de cirrhoses. Enfin, tout récemment, Vincent et Parant (1950) notèrent 87 % de positivité sur 31 cas : on remarque, dans leurs cas négatifs, une cirrhose alcoolique au début, une hépatomégalie hémorragique chez un éthylique.

On observe donc une certaine défaillance de la réaction dans le diagnostic des cirrhoses.

Intérêt pronostique :

Pour Justin-Besançon, Fauvert, Klotz et Barbier (1947), Vincent, Segonzac et Ferret (1948), l'intensité du test possède une valeur pronostique dans les cirrhoses. En effet, dans ces affections, l'atteinte, une fois installée, a peu de chances de régresser. Barbier (1948) insista surtout sur l'augmentation progressive de la densité optique suivant les réactions négatives ou faiblement positives du début : même faible (aux environs de 25-30° Vernes), elle assombrit le pronostic.

Enfin, Bernard et Paget, Albot, Dieryck et Dupuis (1950) insistèrent sur le pronostic de gravité donné par l'effondrement du test parfois jusqu'à la normale (Observation XXXIX) dans la période finale hypolipémique des cirrhoses en décompensation.

c) Dans l'insuffisance hépatique :

Chez les malades présentant des troubles dyspeptiques gastralgiques, chez les « petits insuffisants hépatiques » avec des signes digestifs tels qu'état sabbural et accès migraineux, Vincent, Segonzac et Ferret (1948) observèrent surtout des résultats négatifs. Pour ces auteurs et pour Barbier (1948), la réaction ne présenta pas de valeur diagnostique dans l'insuffisance hépatique. Cependant, sa positivité, même légère, ferait suspecter avec certitude l'atteinte hépatique parenchymateuse.

C'est ainsi que Darnaud et Ferret (1948) inclurent la notion jusqu'à présent assez vague de « Petite Insuffisance Hépatique » entre les chiffres de 80° et 100° Meunier, indiquant l'utilisation possible en vue d'un diagnostic et d'une mesure précise de cette donnée, chez les gros mangeurs, les diabétiques, les tuberculeux. Ces indications permirent à Denard (1949) de mettre en évidence une insuffisance hépatique chez les tuberculeux, aussi sûrement que par l'emploi de

la galactosurie provoquée ou du B. S. P.; et à Ferret (1949) d'en constater la rareté chez les diabétiques. Cependant, dans ce but particulier, la réaction de Mac Lagan n'est pas excessivement sensible et, tout récemment, Vincent et Parant (1950) ont constaté seulement 15 % de positivité dans les troubles dyspeptiques (13 cas) et 4 % dans l'éthylisme (21 cas).

3° *La Réaction de* Kunkel

a) Dans les ictères :

Valeur diagnostique :

Dans les ictères par hépatite, alors que Varay et M^lle^ Frantz trouvent un pourcentage de positivité de 100 % sur 21 cas, Vincent et collaborateurs, sur 17 cas, n'enregistrent que 82 % (SO_4Cu) et 87 % (SO_4Zn). Dans les rétentions, les premiers auteurs, considérant comme négatifs les chiffres au-dessous de 10 Unités, constatent 18 % de positivité (2 cas sur 11), et les derniers nommés 17 % (SO_4Cu) et 22 % (SO_4Zn) respectivement.

Les Parisiens attribuent donc une valeur diagnostique à la réaction, et la trouvent plus précocement positive encore que le test de Hanger. Notons que, dès 1949, Maher, Snell et Mann l'ont appliquée au diagnostic différentiel des maladies hépato-biliaires.

Valeur pronostique :

Kunkel (1947), grâce à des réactions répétées, a établi des courbes qui rendent compte de l'évolution de l'hépatite infectieuse aiguë, et a indiqué tout l'intérêt de la réaction dans le pronostic de l'hépatite chronique.

Pour Varay, l'intensité même du chiffre enregistré possède une valeur pronostique, et la persistance d'un chiffre positif après la guérison constitue un indice sûr d'une reconstitution hépatique anatomique incomplète.

b) Dans les cirrhoses :

Valeur diagnostique :

Kunkel (1947), dans 41 cas, puis Varay et M^lle^ Frantz, dans 12 cas, ont constaté 100 % de positivité. Cet intérêt diagnostique certain est cependant légèrement amoindri à la suite des travaux de Vincent et ses collaborateurs qui enregistrèrent 90 % de positivité au SO_4Cu et 87 % au SO_4Zn dans 31 cas. Les réactions négatives de ces auteurs se situent surtout dans la période de début de ces affections.

Valeur pronostique :

Tout comme dans les hépatites, Varay et M^lle^ Frantz reconnaissent à l'intensité du trouble développé par la réaction une valeur pronostique.

c) Dans les autres affections hépatiques :

Les quatre « Foies métaboliques » de diabétiques et gros man-

geurs de Varay et M^lle Frantz fournissent à ces auteurs des réactions positives, 4 cas de « petite insuffisance hépatique » leur donnant des réactions légèrement positives. Vincent et collaborateurs remarquèrent dans 2 cas de diabète des réactions faiblement positives et des réactions positives dans 2 cas de tuberculose. Ces auteurs constatent des pourcentages de positivité respectifs de 30 % et 38 % dans la « petite insuffisance hépatique », 14 % et 19 % dans l'éthylisme avec les réactions aux Sulfates de Cuivre et de Zinc.

Vingt-deux cas de syndromes vésiculaires (Cholécystites chroniques) fournissent aux mêmes auteurs 22 % (SO_4Cu) et 31 % (SO_4Zn) de positivité, alors que dans les cholélithiases, les auteurs parisiens trouvent des chiffres « légèrement élevés ».

D'autre part, Varay et M^lle Frantz, sur 11 cas de cancers secondaires du Foie, ont 72 % de positivité et « les chiffres sont en rapport avec l'importance du processus néoplasique parenchymateux ». Ces mêmes auteurs citent 4 cas très positifs de syphilis hépatique tertiaire.

B. Revue synthétique : Le Protéinogramme

La défaillance possible de la réaction de Mac Lagan dans le diagnostic des cirrhoses et de la « Petite Insuffisance Hépatique », celle des réactions de Kunkel et Hanger dans le diagnostic étiologique des ictères, après le premier mois d'évolution, a incité les auteurs à utiliser simultanément plusieurs réactions. Cette pratique est désignée sous des noms divers : « Clavier sérologique hépatique », « Protéinogramme », « Néphélogramme ».

C'est ainsi que Barbier (1948) utilise le « Thymol test », le « Hanger test » et la réaction de Gros; Delore et collaborateurs (1949), ces mêmes réactions, plus le test de Takata. Varay et M^lle Frantz (1950), font appel aux tests de Kunkel, Hanger et Mac Lagan; c'est d'ailleurs dans cet ordre de sensibilité et de précocité décroissantes qu'il faut classer les réactions.

Des considérations précédemment exposées, on peut dégager, en gros, les renseignements suivants :

Dans les Ictères :

C'est la réaction de Mac Lagan qui possède l'intérêt diagnostique le plus marqué, parce que la cholostase secondaire ne l'influence que de manière minime. Dans les trois premières semaines de l'ictère, les tests de Hanger et de Kunkel revêtent, semble-t-il, le même intérêt diagnostique d'appoint. Il semble cependant qu'il faille considérer comme négatives les réactions de Hanger : 0, ± et +, et, d'après le travail de Varay et M^lle Frantz, les réactions de Kunkel donnent moins de 10 Unités Shank et Hoagland.

L'intensité même des deux derniers tests paraît posséder une valeur pronostique, augmentée par la répétition des réactions, alors que seule cette répétition donne le même intérêt au « Thymol test ». La persistance de résultats élevés ou leur augmentation continuelle, doit faire craindre l'hépatite chronique.

Plus précoces et plus sensibles, les réactions de Kunkel et de Hanger se positivent dès la période préictérique (Intérêt dans l'hépa-

tite anictérique), la deuxième disparaissant, d'après son auteur, avant la fin de l'ictère. A l'opposé, la positivité du « Thymol test » n'apparaît qu'avec l'ictère et persiste longtemps après la guérison clinique. Donc, la positivité persistante pendant la convalescence peut être considérée comme une « cicatrice humorale » normale, alors que celle atténuée du Hanger incite à la prudence et à une surveillance médicale.

On peut probablement expliquer par ces faits et par les légères différences vues dans le mécanisme des deux réactions, les discordances entre le C.C.F. test et l'Index thymolé indiquées par de nombreux auteurs, notamment : Watson et Rappaport (1945) et Havens et Mark Ruthe (1946) dans l'hépatite expérimentale à virus.

Dans les Cirrhoses :

La positivité précoce des tests de Hanger et de Kunkel leur accorde une valeur diagnostique. Les trois tests revêtent, en outre, un intérêt pronostique du fait même de leur intensité, mais on ne saurait trop conseiller de répéter les réactions dans le temps.

Dans la « Petite Insuffisance Hépatique » :

Grâce à leur sensibilité, les tests de Hanger et de Kunkel sont intéressants et auraient un intérêt diagnostique et pronostique par leur intensité. On ne peut accorder la même valeur à la réaction de Mac Lagan.

En conclusion, le « Protéinogramme » fournit, en clinique hépatique, un appoint sérieux et parfois décisif. Mais, à cause de la notion bien connue d' « Asynergie fonctionnelle » de Fiessinger, il est conseillé d'y associer des épreuves sondant d'autres fonctions du foie. Citons, parmi celles laissées au choix du médecin : la phosphatase, la cholinestérase, les pigments et sels biliaires, la prothrombine, le rapport des cholestérols, etc.

II. Maladies extra-hépatiques.

Nous signalerons un certain nombre de maladies où les tests étudiés se sont révélés positifs.

En 1938, Hanger trouve son test positif dans tous ses cas d'endocardite infectieuse (8), de pneumonies stériles ou à streptocoques (12) de tuberculose séreuse (5), de pneumonie lombaire à pneumocoque terminale (2) ou aggravée avec ictère (3). La réaction se montre positive dans la moitié des cas de leucémies et d'anémies idiopathiques (8), de néphrite terminale (11), dans le cinquième de ceux de pneumonies à pneumocoque non compliquées (19), et, parfois, dans la colite ulcéreuse et le rhumatisme viscéral.

En 1944, Mirsky, von Brecht et Williams; en 1945, Fredericks et Hoffbauer, Bronstein et Reid, Lyppincott, Ellerbrook et collaborateurs; en 1947, Makari, la trouvèrent positive dans le paludisme. Dans le paludisme d'invasion, cet auteur, sur 105 malades, trouve 32 % de positivité, ce pourcentage passant à 52 % deux ans après dans le paludisme secondaire. Sohier, Grégoire, Violette et Poi-

RIER voient la réaction, positive au moment des accès, se négativer ensuite.

En 1947, HANGER trouve sa réaction positive dans le paludisme chronique, les anémies idiopathiques, les sarcomes de la rate, la mononucléose infectieuse. Dans cette dernière affection, en 1948, EVANS trouve 90 % de positivité.

En 1947, KISSANE et collaborateurs trouvent 70 % de positivité dans le rhumatisme articulaire aigu avec cardiopathie.

En 1949, PELLERAT, VAYRE et ROCHETTE dans l'eczéma, DELORE et collaborateurs dans les migraines digestives, LAUDAT dans 2 cas de parathyphoïde B et 2 cas de myélome multiple, trouvent des réactions positives.

Dans le cas du « Thymol test », en 1944, MAC LAGAN signale des réactions constamment et fortement positives dans 4 cas de mononucléose infectieuse, 1 cas de lymphogranulome, 2 cas d'endocardite. Les réactions sont toujours positives, mais plus faiblement dans une pneumonie atypique, deux ostéomyélites chroniques, assez souvent dans l'arthrite rhumatismale (3 cas sur 8) et l'anémie pernicieuse (*Idem*), rarement dans la défaillance cardiaque et dans l'amyloidose.

On peut reconnaître la part des lipides dans les positivités indiquées, en 1945, par RECANT, CHARGAFF et HANGER, pour les sérums lipémiques de diabète et de néphrose, en ajoutant, comme le conseillent KUNKEL et HOAGLAND, en 1947, 5 % de ClNa au tampon thymolé, cette pratique supprimant le trouble dû aux γ globulines.

En 1946, des cas de sarcoïde et de myélomatose donnent des tests positifs à MAIZELS. La même année, COHN et LIDMANN, CARTER et MAC LAGAN confirment les résultats sur la mononucléose infectieuse. Des tests positifs sont également trouvés, en 1946, par les deux derniers nommés et, en 1947, par MAC LAGAN dans le paludisme; la même année, par M^lle^ JOURDAIN dans une fièvre de Malte et deux affections pneumococciques (faible intensité); en 1948, par BARBIER chez des myxœdémateux, où le « Thymol turbidity » s'avère positif fort, le « Thymol floculation » négatif; en 1949, par CUNNAC dans les leucémies. Le travail de LAUDAT, en 1950, confirme les résultats obtenus sur la maladie de Nicolas-Favre, le paludisme, la mononucléose infectieuse, les myélomes.

Quant au test de KUNKEL, peu de renseignements sont disponibles. L'auteur a d'ailleurs indiqué que sa réaction n'est pas spécifique des maladies hépatiques auxquelles il l'a appliquée ultérieurement, et qu'elle est positive dans la maladie de Kahler et les maladies infectieuses.

III. Participation hépatique.

Tous ces faits nous amènent à poser la question de la « Spécificité Hépatique » des tests sérologiques.

Face au groupe déjà étudié des maladies de Foie, on peut diviser grossièrement le groupe des maladies aberrantes en trois sous-groupes :

1. Maladies infectieuses banales : Pneumonie, fièvres typhiques et de Malte, tuberculose séreuse, endocardite, rhumatisme, etc.;

2. Maladies infectieuses du système réticulo-endothélial : Paludisme, mononucléose infectieuse, lymphogranulome, syphilis dont nous parlerons plus loin en détail;
3. Affections osseuses et sanguines : Myélome multiple, leucémies myéloïdes, anémies idiopathiques.

Nous allons essayer d'établir pour chacune la part hépatique reconnue par la clinique ou par d'autres réactions biologiques de valeur certaine.

L'atteinte fréquente du Foie observée cliniquement dans la pneumonie et la typhoïde a biochimiquement été mise en évidence dans la pneumonie où Barker, Capps et Allen (1945) trouvèrent des rétentions anormales du B.S.P. (Note B.S.P. : Test de la Bromsulfonephtaléine. Une rétention sanguine de ce colorant indique une atteinte hépatique), et dans la typhoïde par Fiessinger et Casteran (1927) qui notèrent le même fait, grâce au Rose Bengale, uniquement dans la phase septicémique de l'affection. L'hépatite de la fièvre de Malte est désormais cliniquement classique.

Dans la tuberculose chronique pulmonaire, où il n'y a pas d'insuffisance hépatique cliniquement reconnue, l'autopsie a souvent décelé des lésions du foie avec dégénérescence amyloïde, et, biochimiquement, Kruger et Gerber (1942), Hurst, Maier et Lough (1947), ont pu observer l'extrême fréquence des rétentions élevées de B.S.P.

Dans le rhumatisme articulaire aigu et viscéral, peu de cliniciens ont pensé à incriminer le foie. Cependant, Luttembacher et Gallimard (1941-42-43) ont pu observer, dans quelques cas mortels de rhumatisme viscéral, une « dégénérescence graisseuse ». Biologiquement, Bingen et Stalte (1946) ont noté la fréquence de l'urobilinurie marquée (10) et de l'hyperbilirubinémie (18) dans 28 cas de rhumatisme articulaire. Aubertin, Blanchot et Juin (1949) constatent, dans le sérum de ces malades de l'hypothrombinémie, la rétention de Rose Bengale, l'augmentation de l'azote résiduel, des tests de Hanger et Mac Lagan positifs. Ils concluent à la « possibilité d'une insuffisance hépatique latente », cliniquement non évidente, mais biologiquement démontrable.

Dans le paludisme, on a pu cliniquement noter, outre la splénomégalie, la fréquence d'une hépatomégalie présente au cours des accès thermiques primaires à Vivax ou Falciparum, absente à leur fin. L'autopsie de cas mortels a révélé une atrophie et une nécrose des cellules hépatiques. Les paludismes d'invasion et thérapeutiques ont fourni un vaste champ d'expérimentation. Kopp et Solomon (1943), Kern et Norris (1944), Schneider et Shallenberger (1947) voient la fonction excrétrice du foie perturbée. Dans le paludisme primaire, Lippincott, Ellerbrook et collaborateurs (1945-1946) ont pu mettre en évidence un pourcentage de 15 % de malades possédant une rétention anormale de B.S.P. avant traitement, 83 % pendant, et 12 % seulement après. Dans le paludisme secondaire, Schneider et Shallenberger voient des pourcentages plus élevés avec le même colorant.

Fauvert et Hartmann (1949) ont fait l'étude comparative des tests hépatiques et des Réactions de Hanger et Mac Lagan dans les paludismes acquis et d'inoculation. Les tests sérologiques fortement positifs au moment du traitement, se négativent après celui-ci, l'ensem-

ble des tests évoluant comme dans l'hépatite ictérigène, seules les fonctions pigmentaires et cholaliques restant intactes. FAUVERT (1949) conclut à la spécificité hépatique des tests sérologiques.

Après d'autres auteurs, dans la mononucléose infectieuse, CACHIN (1949) a confirmé cliniquement, par la biopsie et biochimiquement, la constance de l'hépatite diffuse anictérique pouvant laisser des séquelles hépatiques, et EVANS lui-même (1948) a pu noter des rétentions anormales de B.S.P. dans ces affections, même sans ictère.

Notons enfin que, dès 1944, MAC LAGAN signala l'affinité hépatotrope possible des virus de mononucléose, lymphogranulome et pneumonie atypique, ce qu'il confirma biochimiquement dans la première maladie, par la constatation de 4 urobilinuries et d'un ictère, dans le cas de lymphogranulome par la découverte d'une hyperglobulinémie, et d'un index galactose anormal et élevé dans la dernière affection.

Chez les migraineux digestifs, CAROLI, ALLIOT et PARAF (1949), puis les deux premiers (1950), ont pu observer, à l'occasion de cholécystostomie, un flux biliaire augmenté, avec hypersécrétion portant surtout sur la bilirubine, les sels biliaires et le cholestérol. Ils ont accessoirement remarqué l'hypersécrétion biliaire du B.S.P. et une diminution de la rétention sanguine de ce colorant. Rien de tel n'a pu être observé sur des sujets normaux : on ne peut donc nier la participation hépatique qui se traduit ici par un hyperfonctionnement.

Quant à la valeur du test à la B.S.P., elle ressort clairement du pourcentage de rétentions anormales observé par SNELL et MAGATH, dès 1938, sur plus de 10.000 tests avec atteinte hépatocellulaire.

En conclusion, il semble donc que la positivité des tests de HANGER et de MAC LAGAN soit ici le témoin d'une atteinte réticulo-endothéliale à participation hépatique plus large que ne le laisse soupçonner habituellement la clinique. La présence de quantités supra-normales de « Globuline 14 », que l'on suppose anormale et hépatique, constatée par LAUDAT dans certaines maladies extrahépatiques (voir mécanismes) à C.C.F. toujours positif et Mac Lagan accessoirement, plaide également en faveur d'une participation hépatique.

Par quels mécanismes biochimiques peut-on expliquer cette participation hépatique dans la positivité des tests ?

Trois sont possibles pour le test de HANGER :

Taux d'albumine trop abaissé pour inhiber la floculation des γ globulines ;

Taux normal d'albumine et globuline, avec pouvoir floculant élevé d'une globuline anormale ;

Taux normal d'albumine incapable d'inhiber la floculation de quantités anormales énormes de γ globuline.

Pour celui de MAC LAGAN, le premier mécanisme seul rend assez compte de la positivité du test, compte tenu du rôle des phospholipides.

On peut donc expliquer la plus grande sensibilité du test de HANGER par la mosaïque intriquée des trois mécanismes, les deux premiers assurant une assez stricte spécificité. Le seul mécanisme possible du

« Thymol Test » rend compte, avec la possibilité surajoutée d'une hypophospholipémie, de sa sensibilité bien moindre.

Le troisième mécanisme du Hanger expliquerait les positivités aspécifiques d'un groupe résiduel comprenant des maladies infectieuses : Endocardites, Septicémies (Formation d'anticorps) et d'autres affections comme la maladie de Kahler, les Leucémies, etc.

Physiologiquement, comment expliquer cette participation hépatique ?

Une théorie dualiste de la Protidogénèse tend actuellement à se faire jour : il semble, désormais, à la suite des travaux d'Henriques et Klausen (1932), Post et Patch (1942), que le Foie est bien le lieu de synthèse de la Sérum-Albumine. Cependant, d'après les travaux de Enders, Dougherty et collaborateurs, en 1944; Martin, en 1947, il paraît probable que la génèse des γ globulines soit le fait des tissus lymphoïde et réticulo-endothélial. On peut supposer, avec Martin (1949), qu'à la suite d'un remaniement de ces γ globulines par le Foie normal, probablement par des modifications de charges par conjugaison, celles-ci ne sont plus identifiables en tant que γ globulines.

Dans le cas de maladies hépatiques, le Foie serait incapable de remanier la γ globuline et freinerait sa production d'albumine. C'est ce qui conduirait à l'observation dans le sérum d'une hypo-albuminémie et d'une hyper γ globulinémie.

Dans le cas des « Maladies du groupe résiduel », le Foie intact ne pourrait remanier l'ensemble des γ globulines issues d'une synthèse par trop excessive, et c'est cet excès de γ globulines que l'on mettrait en évidence dans le sérum.

Conclusion

Nous voudrions, pour terminer, passer en revue les facteurs et faits les plus importants de la Sérologie Hépatique. Ils nous montreront que, désormais, sortie du domaine empirique un peu mystérieux, elle constitue un tout concret et homogène.

Facteurs physico-chimiques :

Ce sont :

1. La nature des agents floculants :

Sels de cathions bivalents : $HgCl_2$, $CaCl_2$, SO_4Cd, SO_4Zn.
Composés organiques : Formol et Thymol.
On notera dans ces deux groupes les basses concentrations de Réactifs.
Solutions colloïdales électronégatives : Or, C.C.F., Schharlach Red.

Celles-ci, opposées aux protéines sériques électronégatives, ne peuvent expliquer la positivité que par la mise en évidence de différences de structure dans ces dernières.

2. Le pH et la Force ionique :

Nous en avons vu l'importance, une μ trop élevée et un pH trop abaissé rendant la réaction de Mac Lagan aspécifique. On voit tout l'intérêt des solutions tampon.

3. Le facteur de dilution :

Il est très variable (de 1 à 60), mais les meilleurs résultats sont obtenus grâce aux dilutions les plus élevées qui ne permettent pas au pH et à la force ionique propre du sérum d'intervenir dans la réaction.

Facteurs électrophorétiques :

Nous avons vu la prédominance dans les maladies hépatiques de l'hypoalbuminémie et de l'hyper γ globulinémie. Malgré des variations individuelles, on a trouvé aux tests un facteur commun de positivité : l'augmentation de la fraction γ, surtout en présence d'un taux abaissé d'albumine. Nous avons pu le constater dans l'étude des mécanismes. La γ globuline non protégée de la floculation étant : la γ globuline active face à la γ globuline totale. Cette notion ressort d'un travail de Hanger (1945) sur sa réaction, et d'une publication de Mac Lagan et Bunn (1947) qui donnèrent une formule mathématique rendant compte de la force floculante de cette globuline active. En 1947, Olhagen, dans les cas d'allongement de la bande de Weltmann, et Wunderly et Wuhrmann, dans leur réaction, ont pu mettre en évidence l'excès de γ globulines sériques. Grâce aux tests de Mac Lagan et Hanger, on a pu découvrir l'existence, insoupçonnée

malgré l'emploi de l'électrophorèse, d'albumines à pouvoir protecteur abaissé et de γ globulines plus floculables, pathologiques, dans les affections hépatiques.

Facteurs biochimiques :

Les travaux de Bing et Jessen (1940) sur le Formol-gel, de Kunkel (1947) sur le test qui porte son nom, ont démontré une positivité de ces tests liée strictement au taux de globuline totale, mais peu à l'atteinte du Foie.

Par contre, on peut tirer des données sur le C.C.F. test (Hanger, 1939), le thymol test et l'or colloïdal, la notion de prédominance de positivité dans les conditions hépatiques et de rapport lointain avec la globuline totale.

Toutes les considérations théoriques et pratiques exposées au cours de cet ouvrage nous incitent donc à considérer que les tests de Hanger et Mac Lagan sont doués d'une spécificité hépatique assez stricte que l'on retrouve dans les groupes hépatique et aberrant à participation hépatique.

Il faut cependant dire que, par un mécanisme non spécifique, ces réactions rendent compte de perturbations telles que la formation d'anticorps ou d'excès de globulines encore mal définies dans le groupe résiduel, et c'est dans les maladies infectieuses que le test de Kunkel semble appelé à rendre les plus grands services. Cependant, la naissance rapide d'une positivité de ce test peut être interprétée comme un signe hépatique quand elle correspond à un syndrome semblable, la naissance retardée au cours de la maladie étant, au contraire, en faveur de la production d'anticorps.

Nous avons emprunté à Mac Lagan cette mise au point finale, et nous conclurons avec lui à l'intérêt des tests sérologiques que nous étudions, dans l'étude de la Chimie des protéines et en Immunologie, où ils apporteront un appoint complémentaire à l'électrophorèse.

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Techniques utilisées dans notre travail

1. Réaction de Hanger

Nous avons utilisé, pour notre étude, le mélange céphaline-cholestérol préparé par le laboratoire « Biolyon », en flacons contenant 100 mgr. de produit qui, par addition de 2 cm³ d'éther anesthésique, donne la solution-stock que nous n'avons jamais gardée plus de trois semaines bien bouchée en glacière. Nous préparons l'émulsion aqueuse réactif d'après la technique originale de Hanger. A cet effet, dans un Bécher en Pyrex de 150 cm³ (préalablement jaugé à 35 cm³ et 30 cm³) contenant 35 cm³ d'eau fraîchement bidistillée mesurés dans une éprouvette graduée stérile et chauffés à 65°, nous versons, goutte à goutte et en agitant continuellement (à l'aide du thermomètre par exemple), 1 cm³ de solution-stock tirée de la glacière, doucement ramenée à la température de la pièce, vigoureusement agitée, et exactement mesurée à la pipette de 1 cm³ graduée en dixièmes. On peut ainsi mesurer l'évaporation d'éther de la solution-stock et la compléter, le cas échéant. Lorsque la réduction de volume à 30 cm³, effectuée à feu doux (brûleur de Bunsen par exemple) dans le Bécher jaugé, est terminée, l'émulsion transvasée dans une éprouvette graduée stérile, après refroidissement à l'obscurité et rebouchage au coton, est prête à l'emploi. Quand nous utilisons l'émulsion conservée en glacière à l'abri de la lumière pendant cinq jours au maximum, nous la ramenons à la température de la pièce à l'obscurité avant l'emploi.

Nous effectuons le pipettage rapidement, à demi-jour, dans des tubes de 14 mm. × 80 mm. qui, agités par dix renversements successifs et bouchés au liège, sont mis à incuber de vingt-quatre à quarante-huit heures dans une étuve obscure, réglée à + 22° (variations : +2° et —2°).

Au tube à réaction unique, nous avons toujours joint deux témoins contenant chacun eau physiologique et émulsion réactif. La pratique simultanée de nombreuses réactions, nous a toujours permis d'avoir un témoin contenant du sérum ++++ et un autre à sérum 0. Cette pratique, qui permet de contrôler la sensibilité des émulsions et de rejeter les trop faibles, est importante, du moins au moment du changement de lot d'antigène céphaline-cholestérol.

Un travail préliminaire, sur 100 sérums du Centre de Sérologie pris au hasard, nous a permis de mettre au point une notation précise des résultats, encore affinée par la pratique ultérieure de plus de 300 réactions. En lisant, au demi-jour, le tube placé entre la

lumière et l'œil et comparé aux témoins, on peut noter :

Réaction :

0 : Tube inchangé, présentant par agitation des ondes moirées. (C'est ce que l'on doit observer dans le témoin 0.)

± : Fins flocons déjà visibles à l'œil nu et en suspension homogène.

+ : Nombreux flocons en suspension avec début de sédimentation au fond du tube.

++ : Quelques flocons en suspension avec sédiment abondant mais non tassé et léger éclaircissement du liquide surnageant.

+++ : Précipité important, tassé, avec éclaircissement net.

++++ : Précipité important tassé, parfois à bords découpés après 48 heures et avec éclaircissement total.

Comme on le voit, la lecture est basée sur la clarification du liquide surnageant qui débute à ++, l'importance du nombre de flocons en suspension et la sédimentation. Sur la photo jointe, on peut voir, de gauche à droite, un ±, un +, un ++, deux +++, deux ++++, un 0 (Lectures de 48 heures).

2. Réactions de Mac Lagan et de Kunkel

Nous avons adopté les Réactifs au SO_4Cu (non tamponné) et au SO_4Zn (tamponné) dont les formules ont été données par Kunkel. Au bout de quelques mois, les chiffres donnés par le SO_4Cu baissent et ceux du SO_4Zn augmentent légèrement, si bien que les chiffres du premier deviennent inférieurs à ceux du second : les Réactifs sont alors inutilisables et à rejeter. Mac Lagan (1948) a reproché au test du SO_4Zn une force ionique trop basse (0,002) qui ne permet pas de maintenir la stabilité du Réactif. Cette observation expliquerait, dans une certaine mesure, les faits que nous venons de citer. On peut pallier à cet inconvénient en renouvelant les Réactifs assez fréquemment. Pour le « Thymol test », nous utilisons la solution saturée de thymol tamponnée au véronal-véronal sodique (pH 7,8), d'après la formule de Mac Lagan, dont nous contrôlons le pH. Nous avons également pratiqué les lectures tardives de dix-huit heures.

Toutes nos mesures sont effectuées 30 minutes après le mélange de 0,1 cm^3 de sérum et de 6 cm^3 du réactif intéressé : à l'électrophotomètre de Meunier, filtre jaune 57, diaphragme 10, cuve de 1 cm. Le zéro est fait avec le réactif seul ou (cas de sérums ictériques très colorés) avec le sérum dilué dans les mêmes conditions (1/60) avec de l'eau physiologique. Les résultats sont lus directement sur un tambour gradué en degrés Meunier. Dans le cas d'un trouble trop intense on utilise, pour la lecture, les surcharges ou, en dernier ressort, la dilution par un nouveau volume égal de réactif.

3. Réaction de Gros

C'est une adaptation volumétrique du test de Takata. On laisse tomber goutte à goutte, grâce à une microburette, du liquide de Hayem dans 1 cm^3 de sérum frais. On note le nombre de cm^3 nécessaires pour l'obtention du début d'opacification persistante après agitation du tube. Des facteurs subjectifs importants : appréciation du début d'apparition du trouble, vitesse d'affusion du réactif, risquent de fausser le résultat. Nous devons à l'amabilité du Docteur

M. Parant, notre camarade de travail, qui a une grande habitude du test, la pratique de celui-ci en clinique hépatique.

Il faut 2 cm^3 ou plus de réactif pour les sérums normaux. Entre 2 et 1,6 cm^3, le résultat est douteux; au-dessous de 1,6 cm^3, il est positif. Cette réaction trouve tout son intérêt dans le diagnostic des cirrhoses.

Précautions opératoires :

Nous n'avons utilisé que le matériel parfaitement propre pour la Sérologie du Centre de Sérologie.

Nos sérums, prélevés sur des malades à jeun et dans des tubes stériles, sont du jour dans la majeure partie de nos cas. Cependant, dans quelques rares cas, ils ont été conservés en glacière pendant un jour.

Nous avons étudié, sur 15 sérums de syphilitiques et d'hépatiques, l'influence de l'âge des sérums sur la positivité du test de Hanger.

Les sangs, transportés à l'abri de la lumière, centrifugés et testés dans les six heures qui suivirent le prélèvement, conservés à l'obscurité en glacière, puis retestés au bout de un, deux, trois, quatre et cinq jours, ont montré l'influence nulle du vieillissement pendant un jour sur la positivité du Hanger test. On observe cependant une augmentation du taux de positivité sur les sérums gardés plus de soixante-douze heures. Nous rapportons ces résultats dans un tableau spécial.

4. Interprétation des résultats

Nous nous sommes basé, pour la Réaction de Hanger, sur les travaux des auteurs et notre expérience personnelle en clinique hépatique. Nous donnons les résultats après quarante-huit heures, mais conservons la lecture de vingt-quatre heures qui nous indique la précocité de la précipitation. Pour les Réactions de Mac Lagan et de Kunkel, nous avons fait appel aux travaux préliminaires de Vincent et Segonzac (1947) et avons participé à un travail d'équipe de l'Institut de Sérologie sur l'étude comparative de ces trois réactions dans 200 cas cliniques hépatiques et divers (1950, déjà cité).

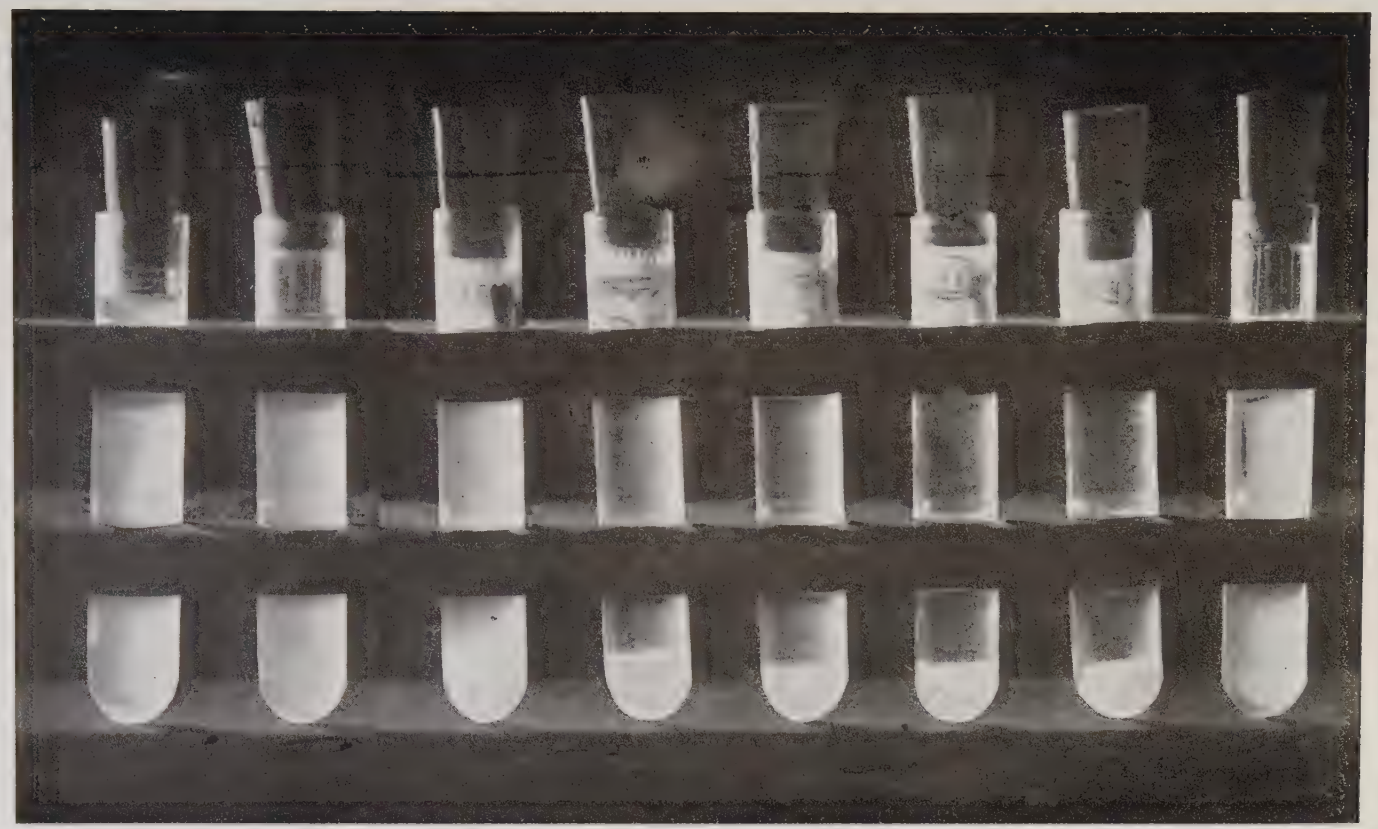
DEGRÉ DE POSITIVITÉ	TEST DE HANGER (48 heures)	« THYMOL TURBIDITY »	RÉACTION AU SO_4 Zn	RÉACTION AU SO_4 Cu
égative. . . . . —	—,± et +	0 à 60	0 à 120	0 à 150
gèrement positive. +	++	60 à 100	120 à 160	150 à 200
sitive. . . . . ++	+++	100 à 200	160 et au-dessus	200 et au-dessus
rtement positive : +++	++++	00 et au-dessus		

A cause de la diversité des techniques employées, il serait souhaitable que les divers auteurs indiquent, avec leurs résultats, la technique utilisée et les chiffres normaux.

INFLUENCE DU VIEILLISSEMENT DES SERUMS GARDES EN GLACIERE SUR LA POSITIVITE DE LA REACTION DE HANGER

(Ces sérums ont été protégés de la lumière à tout moment.)
On voit, dans chaque première colonne, le résultat de la lecture de 24 heures, dans chaque deuxième colonne, celui de la lecture de 48 heures.

AGE DES SÉRUMS	MOINS DE 6 HEURES		UN JOUR 24 HEURES		DEUX JOURS 48 HEURES		TROIS JOURS 72 HEURES		QUATRE JOURS 96 HEURES		CINQ JOURS 120 HEURES	
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	±	—	±	—	±
	—	—	—	—	—	—	—	±	—	±	±	++
	—	±	—	±	—	+	—	+	++	++	++	+++
	—	±	—	—	—	—	—	±	±	+	±	+
	—	+	—	+	±	++	±	++	+	++		
	±	++	±	++	+	++	+	++	++	+++		
	±	++	±	++	+	++	±	++	+	+++		
	±	++	±	++	++	++			++	+++	++	+++
	±	++	±	++	++	++	++	+++	+++	+++		
	+	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++		
	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++
	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++
	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	++++
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	++++



Travail Personnel en Clinique Hépatique

Travail personnel en Clinique Hépatique

Afin de nous faire une idée personnelle précise, nous avons pratiqué simultanément les Réactions de Gros, Hanger, Mac Lagan et Kunkel sur 45 cas appartenant à la Clinique hépatique.

Nous utilisons les abréviations suivantes :

H. . . . . Réaction de Hanger.	24 : Lecture de 24 heures. 48 : Lecture de 48 heures.
ML.	« Thymol turbidity » de Mac Lagan. Les notations en croix au-dessous du chiffre indiquent le degré de positivité du « Thymol floculation » lu après 18 heures. ? indique que cette réaction n'a pas été pratiquée. Nous n'avons pas noté les résultats négatifs.
K Cu. . .	Réaction de Kunkel. Test au SO4 Cu.
K Zn. . .	Réaction de Kunkel. Test au SO4 Zn.

Pour la Réaction de Hanger et, ultérieurement, pour celles de la Sérologie de la Syphilis, nous avons remplacé les nombreux signes + par des chiffres, afin de faciliter l'impression de notre travail. Nous nous en excusons. On a ainsi :

4 pour ++++ (particulier au test de Hanger), 3 pour +++, 2 pour ++, 1 pour +.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

		H			K	
	Gros	24	48	M.L.	Cu	Zn
1. *Cirrhoses* :						
Ve... Cirrhose Laennec au début.	1,4	—	—	25	158	90
Du... Cirrhose éthylique au début.	1,2	2	3	28	170	98
Gr... Cirrhose Laennec stabilisée :						
15-11-49.	1,2			134 +++	255	248
17-11-50.	1,4	2	3	41	335	223
Ma... Cirrhose Laennec.	0,9	4	4	93 ++	340	220
La... Cirrhose Laennec décompensée. . .	0,65	2	3	126 +++	200	155
Ne... Cirrhose Laennec décompensée. . .	1	3	3	50	211	160
Va... Ictère au cours de Cirrhose Laennec décompensée.	1,1	3	3	80 +++	265	200
Ga... Poussée ictéro-ascitique au cours d'une cirrhose.	0,65	3	4	140 ?	412	357
Ma... Cirrhose hypertrophique au début.	2	2	3	80 +	156	80

	H			K	
	GROS	24	48	M.L.	Cu	Zn
Be... Cirrhose hypertrophique éthylique. Période d'état.	1,35	3	3	162 ++	250	210
Le... Cirrhose hypertrophique de HANOT et GILBERT.	1,25	3	3	42	220	160
Pe... Hépatite ictérigène et Cirrhose...	1,1	3	3	120 +++	216	178
2. *Hépatites Ictérigènes :*						
Ga... Ictère toxique probable par Streptomycinothérapie. Début.	2	1	2	23	95	86
So... Ictère toxique probable par Streptomycinothérapie. Guérison actuelle.	1,4	3	3	100 ?	220	210
Pe... Atrophie aiguë du foie. Hépatite toxique cinq jours avant décès.	0,8	3	4	87 +	305	280
Ga... Cancer secondaire du foie avec Hépatite. Evolution mortelle (18-12-50). Epreuves sérologiques le 15-11-50.	0,70	3	4	325 +++	580	410
25-11-50.	0,70	4	4	220 +++	555	454
30-11-50.	0,80	4	4	210 +++	600	464
Lo... Ictère catarrhal prolongé		3	3	152 ++	280	231
Ve... Ictère infectieux prolongé	1,30	4	4	240 ++	300	280
Bi... Spirochétose ictéro-hémorragique à type hépatonéphrite, traitée à l'Auréomycine.	2	4	4	142 +++	155	100
— Neuf jours après : Guérison clinique.		—	—	92 ++	192	147
3. *Ictères par obstruction :*						
Cl... Ictère par rétention	1,25	—	1	60 —	200	125
Mo... Ictère au cours d'un ulcère duodénal. Rétention passagère probable.	1,70	—	1	67	96	60
Al... Ictère lithiasique par rétention (35 jours).	1,80	1	2	63	132	113
Du... Ictère par rétention	2	—	±	2	130	115
4. *Syndromes vésiculaires.* (Cholécystites lithiasiques sans ictère.)						
Co... Gros foie lithiasique sans ictère...		—	—	80 ±	146	100

	Gros	H 24	H 48	M.L.	K Cu	K Zn
Pl... Cholécystite lithiasique sans ictère.	1,6	—	1	50	166	134
Ma... Cholécystite chronique.	2,5	±	1	10	102	50
Cu... Cholécystite chronique.	2,3	±	2	22	135	108
La... Cholécystite chronique.	2,2	1	2	31	167	85
5. *Troubles dyspeptiques* étiquettés « Insuffisance hépatique » :						
La... Troubles dyspeptiques chez tuberculeux pulmonaire.	1,5	—	±	20	148	90
Pu... Troubles dyspeptiques.	2	—	1	32	159	110
6. *Ethylisme :*						
Po... Troubles mentaux éthyliques.	2,25	±	1	15	90	50
Vi... Polynévrite éthylique. Hépatomégalie.		—	±	59	202	154
Em... Hémorragies éthyliques.	2,70	—	±	23	80	35
Jo... Ethylisme chronique.	2,5	1	2	44	90	50
Ba... Ethylisme chronique.	2,6	—	—	30	148	94
Fa... Délirium tremens.	1,5	1	3	25	140	95
7. *Divers :*						
Ga... Hépatomégalie au cours d'un Hodgkin.	2,8	—	±	13	40	25
Bu... Hodgkin traité par radiothérapie.	0,75	±	2	91	237	201
Ro... Hodgkin traité par ypérite à l'azote Un mois et demi après : Ictère.	1,3	3	3	152 +	274	169
Ba... Hodgkin traité par ypérite à l'azote		1	1	38 +	124	71
Ic... Leucose aiguë. Antécédent ictérique.		1	2	76 ?	160	133
Vi... Diabète bronzé.		—	1	24	147	72
Hu... Pneumopathie à BW : +++		2	2	16	155	75
Gu... Foie cardiaque.	2,6	—	—	6	109	62
Dix jours après	3,5	—	—	5	87	39
Bo... Cancer secondaire du foie. Ictère. Décédé depuis.		2	3	77 ±	237	100
De... Maladie de Wilson sans modification clinique du volume du foie	2,25	—	1	10	90	70

On peut ainsi résumer ces résultats en nombre de positifs pour chaque réaction :

Dans 12 cas de cirrhoses : Gros 11, Hanger 11 (9 positifs et 2 positifs forts), Mac Lagan 8 (5 positifs, 3 positifs légers), SO_4Cu 12 (8 positifs, 4 positifs légers), SO_4Zn 9 (6 positifs, 3 positifs légers).

Dans 7 cas d'hépatite ictérigène : Gros 4 (sur 6 testés), Hanger 7 (4 positifs forts, 2 positifs, 1 positif léger), Mac Lagan 6 (2 positifs forts, 2 positifs, 2 positifs légers), SO_4Cu 6 (5 positifs, 1 positif léger), SO_4Zn 5 (5 positifs).

Dans 4 cas d'ictère par obstruction : Gros 1, Hanger 1 (1 positif

léger), Mac Lagan 0 (2 à la limite), SO_4Cu 1 (1 positif), SO_4Zn 1 (1 positif léger).

Dans 5 cas de syndromes vésiculaires : Gros 0, Hanger 2 (2 positifs légers), Mac Lagan 1 (1 positif léger), SO_4Cu 2 (2 positifs légers), SO_4Zn 1 (1 positif léger).

Dans 2 cas de troubles dyspeptiques : Gros 0, Hanger 0, Mac Lagan 0, SO_4Cu 1 (1 positif léger), SO_4Zn 0.

Dans 6 cas d'éthylisme : Gros 1, Hanger 2 (1 positif, 1 positif léger), Mac Lagan 0, SO_4Cu 1 (1 positif), SO_4Zn 1 (1 positif léger).

CHAPITRE II

Les réactions de la Sérologie Hépatique dans la Syphilis

1. Aperçu historique

Nous n'avons connaissance que de peu de travaux concernant l'étude des Réactions de Hanger, Mac Lagan et Kunkel dans la Syphilis.

En 1938, Hanger, dès la mise au point de sa réaction, signala que sa positivité n'est pas parallèle à celle de la Réaction dé Wassermann. En 1948, Huriez, Desurmont et Arquembourg eurent l'idée d'utiliser cette réaction dans la syphilis et observèrent globalement, sur un lot de 77 malades, 48 réactions positives, soit 61,1 %. Ils subdivisent d'ailleurs ce lot en deux groupes :

37 syphilis récentes en période primo-secondaire donnant 30 positifs, soit 81,1 % ;

40 syphilis tardives donnant 18 positifs, soit 45 %.

Les auteurs testèrent également un lot témoin comprenant 46 malades atteints de dermatoses diverses et 20 jeunes péripatéticiennes dont 17 étaient des gonococciques, expliquant la positivité de 70 % observée dans le deuxième groupe par l'intempérance habituelle des malades. Ce dernier fait leur fit également écarter l'idée d'un parallélisme entre les réactions sérologiques de la syphilis et la Réaction de Hanger. Ces auteurs constatèrent que la réaction est « plus fréquemment positive chez les syphilitiques (61,1 %) que chez les autres malades (45 %), le pourcentage dans la syphilis récente (81,1 %) étant presque le double de celui de la syphilis tardive (45 %). Ils étudièrent, d'autre part, le comportement de leurs spécifiques face à la thérapeutique chimique : Arsenic et Penicilline le plus souvent, Bismuth et Cyanure de Mercure. Ils observèrent 62,6 % d'incidents chez les 30 primo-secondaires à Hanger positif, 14,1 % chez les 7 à Hanger négatif (un cas seulement) testés avant chimiothérapie. Le pourcentage d'incidents s'abaisse à 38 % dans 18 cas de syphilis tardive à Hanger positif.

A la suite de ces résultats, les auteurs, notant la grande fréquence des incidents de chimiothérapie chez les sujets présentant un C.C.F. test positif, pratiquèrent systématiquement la réaction avant toute chimiothérapie. Ils concluent : « De toutes façons, la positivité du cephalin test nous incite à une particulière surveillance de la tactique thérapeutique. »

Avec la Réaction de Mac Lagan, Vincent et Segonzac, en 1947, constatèrent des chiffres de 50 à 80° Meunier et plus dans la syphilis secondaire à sérologie très positive, et pensèrent à une légère atteinte hépatique dont témoigne l'index d'Hijmans van den Bergh, sans qu'il y ait, cependant, de subictère clinique. Récemment, Maupin, en 1950, a pratiqué les réactions du Formol-gel et de Mac Lagan chez

des syphilitiques traités ou non à la sérologie positive. Sur 94 malades il a trouvé 21 Formol-gel positifs (22,3 %) et seulement 5 thymol positifs (5,3 %).

En 1949, Delcourt et Manet utilisèrent un réactif de Mac Lagan tamponné à pH 5,7 par une solution de véronal à 5 gr. 52 ‰, sur le liquide céphalo-rachidien. Ils mélangèrent 0,5 cm^3 de L.C.R. et 6 cc. de réactif et observèrent des troubles de 0 à 0,3 U.M.L. chez les sujets normaux, de 0,6 à 4 U.M.L. chez les P.G.

Avec la Réaction de Kunkel, Varay et Frantz, en 1950, signalèrent incidemment 4 cas très positifs de syphilis hépatique tertiaire, et Vincent, Parant et nous-même avons indiqué, la même année, la positivité des tests au SO_4Cu et au SO_4Zn dans 7 et 6 cas respectivement sur 13 de syphilis et dans un cas de maladie de Hogdson.

2. Travail personnel

Lorsque nous avons commencé notre travail, en octobre 1949, seuls les résultats de Huriez sur la Réaction de Hanger, et de Vincent sur celle de Mac Lagan, étaient connus de nous. Ce n'est qu'un peu plus tard que nous associâmes à ces deux réactions les tests de Kunkel aux Sulfates de Cuivre et de Zinc. Nous donnons ici, sous forme de tableaux, les résultats obtenus par la pratique simultanée des quatre tests.

B.W. : Réaction de Bordet-Wassermann (Technique de Demanche : Antigène cholestériné) ;

M : Réaction de Meinicke MKR II (Lecture microscopique) ;

K : Réaction de Kahn Standard.

Les lettres M ou F après les noms des sujets indiquent le sexe masculin ou féminin, le chiffre qui suit, l'âge; ex. : M. 21, sexe masculin, 21 ans.

Les autres abréviations ont été précédemment employées.

I. SYPHILIS PRIMAIRES.

	B.W.	M	K	H 24	H 48	M.L.	K Cu	K Zn
Chancres séro-négatifs.								
Ir... M 30, chancre du gland. Ultra : +..	—	—	—	±	2	50	163	131
Va... F 24, deux chancres grande lèvre. Ultra : +.	—	—	—	—	—	33	157	96
To... F 21, chancre du col. Ultra : ?. . . . Confirmé par renseignements enquête et par virage de la Sérologie.	—	—	—	—	—	18	126	68

II. SYPHILIS PRIMO-SECONDAIRES

1. *Chancres séro-positifs.*

To... F 21, chancre du col, virage sérologie le 29-12-1950. . . . . Température à 40°, Céphalée, Délire, Asthénie pendant deux jours, à la première piqûre d'un traitement Scurocillline Bivatol.	3	3	3					

	B.W.	M	K	H 24	H 48	M.L.	K Cu	K Zn
En cours traitement le 18-1-51	3	3	2	3	3	35	187	120
En cours traitement le 17-2-51	3	1	2	—	—	15	128	94
Le... M 25, chancre sillon balano-préputial	3	3	3	—	—	37		
Après dix jours d'un prélude pénicilliné				±	±	43		
Jo... M 26, chancre	1	3	3	—	—	10		
Po... M 20, chancre prépuce en octobre 1949	3	3	3					
Sérologie résistante au traitement, 6-12-1950	3	2	3	3	3	35	152	125
Pas de lésions muqueuses.								
Ba... M 27, chancre fourreau de la verge en octobre 1949	3	2	3					
Traité : 15-3-1950	—	—	—	—	1	25	169	135
Depuis, série de Novar. de 6 gr. 75.								
Bien supportée (un vomissement à 75 ctg.).								
Ma... M 55, chancre fourreau de la verge, 21-11-1950	3	±	1	±	2	24	182	90
Sa... M 20, chancre datant de 1949. Mal soigné à cause intolérance au Novar.								
Avant série de Novar interrompue, le 3-2-1950	3	3	3	3	4	25		
Après interruption, 18-3-50				—	±	17	140	107
2. *Cutanéo muqueuses primo secondaires.*								
Av... M 24, chancre amygdalé + Roséole.	3	3	3	4	4	115 +++	185	165
Fraîche, non traitée.								
Le deuxième jour du traitement Pénicilline + Bivatol : Asthénie profonde et température (38°1).								
Ba... M 35, chancre du prépuce + Roséole. Fraîche. Ensuite Asthénie et clocher à 39°6 et 38°9 le premier et deuxième jour du traitement Bismuth + Pénicilline...	3	3	3	4	4	46	235	120
3. *Cutanéo muqueuses secondaires.*								
Ba... F 23, plaques muqueuses amygdaliennes et périnéo-vulvaires. Fraîche. Pénicilline + Bismuth bien supporté	3	3	3	—	2	35	180	145
Après traitement				1	3	29	190	149
Se... F 22, S. secondaire récente	3	2	3	4	4	65 +	192	159
Bo... M 20, S. secondaire fraîche	3	3	3	3	3	52	210	175
He... F 21, collier Vénus. Plaques piliers de la gorge (Contage mai 1950)	3	3	2	3	3	61 ±	163	143
4-12-1950. Fraîche : traitée avec Bivatol puis Novar. Fatigue au Novar.								

	B.W.	M	K	H 24	H 48	M.L.	K Cu	K Zn
Ca... F 41, Roséole et plaques muqueuses, 5-12-1950.	3	3	3	4	4	102 ++	280	245
Après poussée thermique (40°5) et poussée de Roséole le douzième jour d'un traitement (22-12-1950) Pénicilline + Bismuth.	3	3	3	2	2	75 +	223	153
Co... M 21, chancre non traité en 1948. Plaque muqueuse de l'angle de la commissure. Traitement depuis sept mois.	3	1	2	1	3	38	145	107
Sérologie partiellement irréductible.								
Ro... M 36, S. secondaire en traitement. .	—	—	—	—	1	40	180	122
We... M 25, S. secondaire en traitement.	—	—	1	1	2	58	160	112
Ch... M ?, S. secondaire en traitement...	—	—	—	—	—	11	159	147
Bo... M 39, S. secondaire ne traitement. .	—	—	—	2	2	27	195	170
Br... F 50, S. secondaire en traitement depuis deux mois et demi. Blanchie à la Pénicilline + Bismuth. . . .	—	—	—	—	—	49	210	133
III. SYPHILIS PUREMENT SEROLOGIQUES								
Pa... M 29, traitée : Sérologie irréductible. Avant une série de Novar + Bismuth bien supportée.	3	3	2	2	3	96 ?		
Ca... F 50, avant une série de Novar bien supportée, 21-1-1950.	3	3	1	2	3	74 ?		
Pendant 1-3-1950.	3	3	1	—	1	26		
Bo... F 36, traitée. Avant une série de Novar mal supportée, 10-2-1950. (Syncope à 60 ctgr., température à 40°. Nausées, céphalée.)	—	2	3	3	3	68		
Interrompue le 11-3-1950.				2	3	39	187	140
Depuis, intolérance au Sulfarsénol (2e série) : Crampes. Asthénie.								
Be... M ? Traitée.	2	1	1	—	2	97 +		
Ra... F 40, récente, 15-2-1950. . . . . (Mais partenaire avec Syphilis secondaire.)	3	1	1	-	2	52		
27-2-1950.	—	2	1	-	1	68		
9-3-1950.	3	±	1	2	2	47	196	141
Zi... F 23 (Enceinte). Récente.	—	3	2	—	1	36	88	33
Pa... F 27. Traitée. Sérologie irréductible.	3	3	3	±	2	47	160	70
Vi... M 27. Traitée.	3	3	3	—	—	41	156	90
Antécédent : Blennorragie il y a 8 ans.								
Bo... M 36. Traitée, 31-10-1950.	3	—	2	2	2	5	102	57
Sérologie partiellement irréductible.								

	B.W.	M	K	H 24	H 48	M.L.	K Cu	K Zn
	—	—	—	—	—	—	—	—
A cette date : Accident tuberculeux ou syphilitique au genou à la suite d'une chute.								
Bl... M 43. Traitée, 8-11-1950	3	3	2	2	3	238 +++		
Sérologie irréductible, 13-11-1950	3	3	2	2	3	285 +++	280	250
Ma... M 70. Récente	3	3	3	—	—	28	133	95
Ma... M 21. Récente. Sérologie partiellement irréductible.	2	—	2	2	3	14	155	120
As... F 29. Récente (Enceinte)	3	3	3	—	±	18	130	106
Bo... M 74. Récente (Bronchite)	3	3	3	1	3	30	208	185
Al... M ? Traitée. Sérologie irréductible	3	3	3	—	—	10	126	65
Pr... M 42. Récente, traitée à Sérologie irréductible.	3	3	3	1	2	94 ++	180	140
(Blennorragie en 1949.) Ensuite au cours d'une série mixte Novar + Bismuth : Asthénie, température, congestion de la face (à 90 ctgr.).								
Gr... F 42. Traitée. Après liseré bismuthique. Intolérance ultérieure au Sulfarsénol.	3	±	3	—	±	32	160	144
IV. SYPHILIS TERTIAIRES								
1. *Syphilis tertiaires cutanéo-muqueuses.*								
Ou... M 40. Gomme du palais avec perforation : pièce de 1 franc	3	1	2	3	3	44		
Avant traitement au Novar. Mal supporté et interrompu, 4-2-1950.								
Un mois après, 3-3-1950	?	?	?	2	3	24	120	70
Fl... M ? Syphilides tertiaires de la fesse, 4-2-1950.	3	3	2	—	—	28		
Bismuth supporté, 3-3-1950				—	—	18	121	87
Cr... M 65. Gomme typique. Cicatrice douteuse fourreau de la verge	3	3	2	2	3	92 ++	145	98
Mis au Novar : Clocher de deux jours à 38°4 après première injection, de un jour après la sixième (60 ctgr.).								
Après traitement.	3	3	1	1	2	96 +	221	112
Sa... F ? Syphilis tertiaire, 27-10-1950	3	3	3					
Traitée depuis deux mois, 21-12-1950	—	1	2	—	—	23	60	39
Ra... M 44. Leucoplasie. Plaques muqueuses amygdales, hypopharynx œsophage.								
Avant 16-12-1950.	3	3	3	3	3	82 +	263	195
Traité sans incidents à la Pénicilline + Bismuth. Après 17-1-1951	3	3	3	1	2	70 ±	225	177

	B.W.	M	K	H 24	H 48	M.L.	K Cu	K Zn
2. *Cardio-vasculaires.*								
a) Aortites spécifiques :								
Ch... M 51. Anévrisme de l'Aorte non traité. Chancre à 18 ans et plusieurs blennoragies.	3	3	3	—	±	13	138	73
Vi... M 52. Anévrisme de l'Aorte non traité.	3	3	3	—	—	20	140	90
Se... F 67. Non traité	3	3	2	2	3	35	245	152
Fo... F 73. Non traitée	3	3	3	2	2	70	183	145
Fe... F 49. Non traitée	3	3	2	2	2	180	300	249
Cl... M 75. Traitée	—	—	—	1	2	12	208	136
Lo... M 47. Traité. Avant série de Cyanure sans accidents. 26-1-1950.	2	2	2	—	±	16		
Après, 22-3-1950.	2	±	2	—	—	23	140	61
b) Hogdsons :								
La... F 50, en traitement	3	3	3	—	—	40	165	138
Ma... M 51	3	3	2	2	3	95	210	175
Sa... M 55. Gros foie douloureux	3	±	3	3	3	139	297	247
Ch... F 52. Traité, 21-1-1950	—	3	2	—	1	47		
11-3-1950.				—	—	42	141	65
Ou... F 54. Subictère. Non traité	3	3	2	4	4	88	188	144
Be... M 57. Hodgson + Tabès frustre (non traité). Foie légèrement augmenté de volume. Cyanure réveille crises tabétiques.								
Avant Cyanure, 16-11-1950	3	3	2	—	±	12	150	92
Après, 9-12-1950.				1	2	17	162	95
3. *Nerveuses.*								
Pi... F 37. Tabès traité. Crises gastriques.	—	—	—	—	—	21	130	90
De... F 55. Tabès traité. Crises gastriques	—	—	—	—	—	18	113	60
As... M 51. Tabès traité. Chancre mou en 1918.	3	1	3	—	—	87	153	97
Ca... M 46. Chancre et Roséole en 1942. Tabès arthropathique. Avant traitement à la Pénicilline, 1-12-1950	—	—	—	3	3	20	195	160
Pendant traitement le 18-1-1951, ictère non fébrile, vraisemblablement catarrhal.	—	—	—	4	4	177	230	195
De... M 51 Syndrome Babinski-Vaquez. Traité.	3	1	2	—	±	23	112	80
Be... F 60. Myélite d'Erb syphilitique	3	3	2	2	3	51	240	155
LCR : B.W. et Benjoin positifs.								
Bo... M 39. P.G. L.C.R. : B.W. + + + ...	3	2	1	—	—	10		

	B.W.	M	K	H 24	H 48	M.L.	K Cu	K Zn
Be... M 50. P.G. L.C.R. : B.W. +++....	3	3	2	—	—	58 ?	240	205
Es... F 60. P.G. L.C.R. : B.W. et Benjoin Positifs.	3	3	3	2	3	117 +++	220	178
Ba... M 52. P.G. L.C.R. B.W. et Benjoin positifs.	3	3	2	2	3	31	225	160
Ri... M 43. P.G. L.C.R. : B.W. et Benjoin positifs.	3	1	3	—	—	11	145	89
De... M 65. P.G. L.C.R. : B.W. +++....	3	1	2	—	—	39	142	84
Mo... M 42. P.G. L.C.R. : B.W. +++....	3	3	2	—	—	46	172	116
Ma... F ? P. G. + Aortite : L. C. R. : B.W. +++.	3	3	3	—	—	6	118	80
Ga... F 16. Hérédo P.G. infantile dans L. C.R. : B.W. +++.....	3	3	3	—	±	23	157	107
Le... F 41. S. nerveuse asymptomatique (Abolition réflexes). L.C.R. : B. W. +++.	3	1	2	—	—	25	107	50
Be... M 46. S. nerveuse asymptomatique (Abolition réflexes). L.C.R. : B. W. —.	—	2	2	—	—	196 +++	200	166
Ca... M 63. S. nerveuse asymptomatique (Abolition réflexes).	3	3	2	—	—	37	145	125
Bo... M 57. Artérite pédonculaire (Pas d'aortite). L.C.R. : B.W. et Benjoin positifs.	2	3	2	—	—	55	175	110
4. *Syphilis anciennes sérologiques.*								
Gr... F ? S. latente : Non traitée.....	3	3	3	2	3	61 ±	220	140
Ro... F ? S. latente : Non traitée.....	2	3	2	—	±	49		
Go... M 68. Non traitée.....	3	3	2	2	3	49	255	170
Be... F 36. Non traitée.....	3	3	2	3	3	80 +	190	165
Ba... F 30. Non traitée.....	3	3	2	1	2	27	180	135
Pa... F 44. Sérologie oscillante. Irrégulièrement traitée.	3	3	2	4	4	50 ±	230	187
Th... F 40. Sérologie irréductible.....	3	3	2	±	2	58 +	193	140
Ab... M 37. Sérologie irréductible.....	2	2	2	—	—	53	145	90
Na... M 40. Sérologie irréductible.....	3	3	3	2	3	121 ++		
Ta... M 25. Non traitée.....	3	3	2	—	—	40	147	120
La... M 55. Traitée.....	—	2	2	2	3	24		
Pi... F 34. Traitée.....	—	3	2	1	2	22	165	121
Su... F 32. Traitée.....				—	1	90 ?	139	111
Me... M 35. Traitée.....	2	2	1	—	1	14	135	108
Es... F 50. Traitée.....	2	2	2	1	2	80 ?		
Gr... M 40. Traitée.....	3	1	1	3	3	23		
Je... M 32. Traitée.....	3	3	±	1	2	27		

	H					K	
	B.W.	M	K	24	48	M.L.	Cu	Zn
5. Syphilis anciennes à Sérologie négativée (ou positive faible) par le traitement.								
Gr... F 46. Avant une série Bismuth + Novar (6 gr. 35), bien supportée..	—	—	—	—	—	45		
Après traitement.	—	—	—	—	1	54		
Do... F 36.	—	+	±	—	—	40		
Sa... M 32.	—	—	—	—	—	43		
Bo... F 25.	—	3	±	—	—	57		
Ar... M 30.	—	2	—	—	—	26		
Ba... M 40.	—	—	—	—	—	25	130	65
Ch... F 46.	—	—	—	1	2	58	157	118
Ze... M 32. Traitée irrégulièrement. Leucoplasie.	—	1	—	2	2	57	150	104
Mo... F 27.	—	—	—	—	±	15	115	93
V. HEREDO-SYPHILIS								
Fa... M 38. A Sérologie irréductible.	2	2	2	—	—	7		
So... F 34. Evolutive non traitée.	3	3	3	—	—	36		
Fr... F 21. A Sérologie irréductible.	3	2	2	—	—	36	78	53
Ca... F 35.	—	—	—	—	±	45	163	102
Br... M 21.	—	—	—	—	—	37	162	101

3. Interprétation des résultats

Dans le tableau suivant, nous donnons sous chaque réaction et dans chaque période de la maladie, le nombre de positifs et les pourcentages de positivité. Nous notons :

Légèrement positif. . . . . +
Positif. . . . . ++
Fortement positif. . . . . +++

VARIÉTÉS DE SYPHILIS	TEST DE HANGER	TEST DE MAC LAGAN	TEST AU SO_4 Cu	TEST AU SO_4 Zn
Chancres Séro-négatifs non traités. . . .	1 soit 1 + 33 %	0 0 %	2 soit 2 + 66 %	1 soit 1 + 33 %
Chancres Séro-positifs.	4 soit 1 +++ 2 ++ 1 + 66 %	0 0 %	(Sur 3 testés) 3 soit 3 ++ 100 %	(Sur 3 testés 2 soit 2 + 66 %
Chancre Séro-positif négativé par le traitement.	0	0	1 soit 1 ++	1 soit 1 +
Primo-secondaires cutanéo-muqueuses. ..	2 soit 2 +++	1 soit 1 ++	2 soit 1 ++ 1 +	2 soit 1 ++ 1 +
Secondaires cutanéo-muqueuses.	6 soit 2 +++ 3 ++ 1 + 100 %	3 soit 1 ++ 2 + 50 %	5 soit 2 ++ 3 + Négatif : Cas à Sérologie irréductible. 87 %	5 soit 2 ++ 3 + 87 %

ARIÉTÉS DE SYPHILIS	TEST DE HANGER	TEST DE MAC LAGAN	TEST AU SO_4 Cu	TEST AU SO_4 Zn
Secondaires cutanéo-muqueuses en traitement, séro-négatives.	2 soit 2 ++ 40 %	0 0 %	5 soit 1 ++ 4 + 100 %	4 soit 1 ++ 3 + 80 %
Sérologiques pures.	11 soit 6 ++ 5 + 64 %	6 soit 1 +++ 5 + 35 %	(Sur 12 testés) 7 soit 2 ++ 5 + 58 %	(Sur 12 testés) 5 soit 2 ++ 3 + 41 %
Tertiaires cutanéo-muqueuses non traitées.	3 soit 3 ++ 75 %	2 soit 2 + 50 %		
Tertiaire cutanéo-muqueuse traitée. . . .	0	0	0	0
Aortites : non traitées.	3 soit 1 ++ 2 + 60 %	2 soit 1 ++ 1 + 40 %	3 soit 2 ++ 1 + 60 %	3 soit 1 ++ 2 + 60 %
traitées.	1 soit 1 + 50 %	0 0 %	1 soit 1 ++ 50 %	1 soit 1 + 50 %
Hodgson non traités.	3 soit 1 +++ 2 ++ 75 %	3 soit 1 ++ 2 + 75 %	4 soit 2 ++ 2 + 100 %	3 soit 2 ++ 1 + 75 %
Hodgson en traitement.	0 0 %	0 0 %	1 soit 1 + 50 %	1 soit 1 + 50 %
Nerveuses.	4 soit 4 ++ 1 Tabès, arthropathique. 1 Myélite d'Erb. 1 P. G. 1 P. G. 21 %	3 soit 2 ++ 1 + 16 %	(Sur 18 testés) 10, soit 5 ++ 5 + 55 %	(Sur 18 testés) 7, soit 5 ++ 2 + 39 %
Anciennes Sérologiques.	12 soit 1 +++ 6 ++ 5 + 70 %	4 soit 1 ++ 3 + 23 %	7 (sur 11 testés) soit 3 ++ 4 + 63 %	7 (sur 11 testés) soit 3 ++ 4 + 63 %
Anciennes Séronégativées par le traitement.	2 soit 2 + 22 %	0 0 %		
Hérédo.	0 0 %	0 0 %	(Sur 3 testés) 2 soit 2 + 66 %	(Sur 3 testés) 0 0 %

Globalement, dans la syphilis, la Réaction de Hanger fournit 50,9 % de positivité (55 cas sur 108), et celle de Mac Lagan 24 % (26 cas sur 108). Dans 23 syphilis primo-secondaires, la première réaction donne 15 positifs (65,2 %), la seconde 4 (17,3 %). Dans 85 cas de syphilis tardives, nous enregistrons 40 C.C.F. test (47 %) et 22 « Thymol test » (25,8 %) positifs. Nous ne donnerons pas de pourcentages pour les tests au SO_4Cu et au SO_4Zn que nous n'avons pas pratiqués dans tous les cas.

La sensibilité et la précocité des réactions les divise en deux groupes :

D'une part : Test au SO_4Cu, test au SO_4Zn, test de Hanger.

D'autre part : Réaction de Mac Lagan, moins sensible et moins précoce.

Nous considérons d'ailleurs le test au SO_4Cu, qui utilise un réactif non tamponné et de pH bas, comme trop sensible. Les pourcentages de positivité donnés pour chaque partie de la syphilis n'ont pas la prétention d'avoir une signification absolue, mais relative, et nous ont permis de dégager un certain nombre de faits.

Dans la période primo-secondaire, avec des syphilis non traitées, on voit les courbes de pourcentage de positivité du Hanger et du test au SO_4Zn, évoluer parallèlement. S'amorçant dès la phase pré-humorale, croissant au moment du virage de la Sérologie, elles atteignent un maximum dans la période secondaire cutanéo-muqueuse. Au contraire, muet dans les deux premiers temps, le Mac Lagan se positive brutalement dans la période secondaire. Sous l'effet du traitement antisyphilitique, qui négative la Sérologie, les pourcentages de positivité des trois tests régressent plus ou moins brutalement, et celui du Mac Lagan s'affaisse jusqu'à la normale. Le cas intéressant de TO..., observé d'abord comme chancre séro-négatif, puis comme chancre séro-positif, montre d'ailleurs que la Sérologie hépatique, qui s'est positivée au début du deuxième temps, peut se négativer sous l'effet du traitement, alors que les réactions sérologiques de la syphilis sont encore positives.

Nous ne tirerons aucune conclusion du groupe résiduel des syphilis sérologiques.

Dans les syphilis tardives : tertiaires cutanéo-muqueuses, cardio-vasculaires, nerveuses, anciennes sérologiques, les pourcentages de positivité des trois tests vont de pair, mais avec des nuances. On observe des réactions négatives dans l'Hérédo-Syphilis.

Le traitement spécifique abaisse, là aussi, les pourcentages de positivité. On note des pourcentages élevés dans les syphilis tertiaires cutanéo-muqueuses et cardio-vasculaires, plus faibles dans les syphilis nerveuses.

Le test au SO_4Zn donne une mesure de la « γ globuline absolue », les tests de Hanger et Mac Lagan une mesure de la « γ globuline active ». Cependant, nous avons vu le rôle indispensable de certains lipides pour la positivité du dernier test. Comme en Clinique hépatique, c'est donc probablement dans le taux de la lipémie qu'il faut chercher la raison des discordances de positivité observées dans certaines périodes. Rosen, Krasnow, Morris et Lyons, en 1933, ont étudié comparativement les taux du cholestérol, des lécithines, des

lipides totaux dans le sang des syphilitiques. D'après ces auteurs, dans la syphilis primaire, le taux du cholestérol est plus bas qu'à tous les autres stades de l'infection, et celui des lécithines est aussi abaissé. Le taux des lécithines est également abaissé dans la syphilis secondaire, et celui du cholestérol légèrement plus bas que d'habitude. Nanta, Vincent, Bazex et Roure (1943) donnent les résultats d'un travail qui porte sur les diverses fractions lipidiques, notamment dans trois cas de syphilis secondaire et 26 cas de syphilis tertiaire. Ces auteurs confirment les résultats cités plus haut dans la syphilis secondaire, observent une augmentation nette du cholestérol total (en accord avec Gaucher, Paris et Desmoulières, 1912), des lipides totaux dans la syphilis tertiaire. Après avoir constaté, en accord avec les autres auteurs, l'augmentation plus nette encore de ce corps dans la syphilis nerveuse, ils insistent sur l'aspect « lipoïdotrope » de la maladie dans la période tertiaire. Ces faits semblent expliquer la négativité du test de Mac Lagan dans la période primaire, et, en partie, dans le début de la période secondaire. Cependant, les opinions des auteurs sur le taux des lipides dans la syphilis que Roure passe en revue dans sa thèse (1942), sont contradictoires. Il est donc possible que les taux reviennent à la normale au moment de l'éruption cutanée généralisée, rendant ainsi possible la positivité du Thymol test. L'aspect « lipoïdotrope » de la période tertiaire explique la positivité soutenue de la réaction dans cette période.

Incidemment, nous avons pu observer, au cours de notre travail, par exemple dans la syphilis secondaire, quelques réactions violentes chez des malades traités même à la Pénicilline-Bismuth, présentant des réactions sérologiques hépatiques positives avant tout traitement. Ces faits semblent confirmer l'opinion de Huriez et ses collaborateurs, qui utilisaient des médicaments plus choquants, tels que Novar seul ou Novar-Bismuth, sur l'intérêt de ces réactions avant certaines chimiothérapies.

La positivité des réactions dans la syphilis indique-t-elle une atteinte générale du système réticulo-endothélial, avec atteinte plus particulièrement hépatique ? Nous ne saurions conclure.

Cependant, on ne peut s'empêcher de penser aux constatations de Schulman et Grosti sur l'hyperglycémie et sur l'atteinte hépatique dans la syphilis secondaire, où nous observons les pourcentages les plus élevés de positivité. On peut également constater que les réactions de Hanger et Mac Lagan notamment, sont positives, surtout au cours des atteintes hépato-cellulaires.

La pratique des Réactions de Hanger, Kunkel au SO_4Zn, et Mac Lagan, peut avoir quelque intérêt avant les chimiothérapies. Positives avant l'apparition de l'ictère, les deux premières nommées peuvent être de quelque utilité dans la surveillance des thérapeutiques thyroïdiennes (Aminothiazol par exemple), au cours desquelles Azerad, Berthaux, Debrux, Nataf et Houssay (1948) ont pu constater l'apparition d'ictères thérapeutiques parfois graves.

CONCLUSIONS

Nous apportons, dans notre travail, une contribution à l'étude de quelques réactions de la Sérologie hépatique : Test à la céphaline-cholestérol de HANGER, Réaction au Thymol de MAC LAGAN, Réactions au SO_4Cu et au SO_4Zn de KUNKEL et, accessoirement, Réaction au Sublimé de GROS en clinique. Elles ont pour base le déséquilibre protidique du sérum observé dans les maladies de Foie. D'après les expérimentateurs ayant procédé à l'analyse électrophorétique de sérums de malades présentant des atteintes du parenchyme hépatique (Hépatites ictérigènes, Cirrhoses), on peut admettre que l'hypoalbuminémie et l'hyper γ globulinémie observées de manière constante et concomitante avec, accessoirement, une augmentation des β globulines, support des lipides sériques, constituent un signe fidèle et précoce d'atteinte hépato-cellulaire. L'étude détaillée du mécanisme biochimique des réactions, qui fait suite à l'exposé de leurs techniques, nous a montré que leur positivité rend précisément compte de ce déséquilibre particulier. Ce fait constitue le premier argument en faveur d'une Hépato-Sérologie considérée comme un tout complet et homogène. Cependant, certains lipides sériques normaux constituent un facteur adjuvant essentiel pour la positivité du test de MAC LAGAN, et une réaction de KUNKEL positive n'est qu'un index d'hyper γ globulinémie.

Des publications des auteurs, nous avons dégagé la valeur diagnostique et pronostique de ces réactions en Clinique hépatique et l'idée de la nécessité de leur emploi simultané.

Cependant, ces réactions présentent un pourcentage, relativement faible d'ailleurs, de positivité dans certaines maladies extrahépatiques. En confrontant dans celles-ci certains faits cliniques et les résultats de tests biologiques d'atteinte du Foie qui ont déjà fait leurs preuves, nous avons pu voir qu'elles rendent probablement compte d'une atteinte réticulo-endothéliale avec participation hépatique plus large que ne le laisse soupçonner la clinique.

Notre travail personnel a débuté par une rigoureuse mise au point des techniques au laboratoire. Nos réactions sont ensuite passées au banc d'essai, grâce à l'étude de 36 cas cliniques hépatiques et de 10 cas divers.

Du point de vue diagnostique, nous avons vu la grande valeur des tests de GROS (jamais en défaut), HANGER et KUNKEL dans les cirrhoses, et enregistré la défaillance partielle du « Thymol test ». L'intérêt de cette dernière réaction est certain dans le diagnostic étiologique des ictères, dans lequel le test de HANGER se révèle également précieux et le Kunkel un peu plus sensible. Le petit nombre de cas de cholécystite chronique, éthylisme, etc., ne nous a pas permis de conclure, mais nous pensons posséder avec le Hanger un test sensible, mais sans excès.

Nous avons pu observer, dans quelques cas, la valeur pronostique du taux de positivité des tests de HANGER et de KUNKEL. Ces dernières réactions paraissent plus précoces que le « Thymol test ». Nous confirmons donc, en gros, les résultats des autres auteurs.

Mais la partie principale de notre travail est constituée par l'étude de ces réactions dans la syphilis. Nos statistiques comprennent 108 cas, soit 23 syphilis récentes primo-secondaires et 85 syphilis tardives. Nous ne tenons pas compte des résultats du test au SO_4Cu, que nous considérons comme trop sensible.

Vu le petit nombre de cas de syphilis primaire et secondaire, nos pourcentages de positivité ont pour seul but de donner un ordre de grandeur relative.

Dans les chancres séro-négatifs, la courbe du pourcentage de positivité du Hanger et du test au SO_4Zn s'amorce. Elle s'élève avec les chancres séro-positifs, pour atteindre le chiffre maximum observé dans la syphilis, dans la période primo-secondaire et secondaire cutanéo-muqueuse, où le Thymol test donne à son tour un fort pourcentage de positivité. A un stade quelconque, le traitement spécifique abaisse les pourcentages de positivité.

Dès ce moment, nous n'observons plus de dissociation des réactions. Après les syphilis secondaires cutanéo-muqueuses, c'est dans les syphilis tertiaires cutanéo-muqueuses fraîches que les pourcentages de positivité les plus importants sont notés. Viennent ensuite dans l'ordre les syphilis cardio-vasculaires, où le pourcentage est plus marqué pour les Hodgson que pour les aortites simples, les syphilis anciennes sérologiques, enfin, les syphilis nerveuses. Dans cette période également, le traitement semble abaisser les pourcentages de positivité. Nous avons omis volontairement le groupe résiduel des syphilis sérologiques. Dans l'hérédo-syphilis, les réactions paraissent négatives.

C'est dans le taux des lipoïdes sériques qu'il faut probablement chercher la raison de la dissociation de positivité de la période primaire et du début de la secondaire. Vu le rôle des lipides dans la Réaction de MAC LAGAN, la baisse des lipides constatée par NANTA, VINCENT, BAZEX et ROURE explique peut-être, en partie, la négativité de cette réaction dans les deux premières périodes, et l'hyperlipidémie, sa positivité dans la période tertiaire avec, sans doute, en plus, des perturbations globuliniques.

Il ne semble pas qu'il y ait un parallélisme entre la positivité des réactions « hépatiques » et celle des réactions sérologiques de la Syphilis.

La positivité des réactions de la « Sérologie Hépatique » dénoterait une atteinte du système réticulo-endothélial avec, probablement, participation hépatique.

Enfin, nous avons noté incidemment, dans des cas de syphilis primo-secondaires à réactions de la sérologie hépatique positives avant tout traitement, des incidents, même avec un traitement peu

choquant, tel que Pénicilline+Bismuth, ce qui corrobore les résultats déjà obtenus par Huriez et ses collaborateurs, en 1948. On voit donc l'intérêt que peut présenter la pratique de ces réactions avant la chimiothérapie. Il est donc possible que la pratique des trois tests puisse rendre quelques services dans la surveillance du traitement chimique de la Syphilis et d'autres maladies.

(Travail de l'Institut de Sérologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Toulouse.)

Vu : *Le Président de la thèse,*
Nanta.

Vu : *Le Doyen,*
Lefebvre.

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, le 15 mars 1951.

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
Dottin.

QUESTIONS POSEES PAR LA FACULTE

1° La Podophylle en thérapeutique dermatologique.

2° La Vitamine F.

3° Les formes d'élimination des médicaments arsénicaux organiques.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Abrami (P.) et Wallich (R.). — Modification du sérum sanguin au cours des cirrhoses du foie avec ascite. Inversion du rapport sérines-globulines, *C. R. Soc. Biol., Paris*, 1929, 101, 291.

[2] Albot (G.), Dieryck (J.), Dupuy (R.). — Les tests de dysfonction-hépatique par les éliminations de galactose, *Bull. Assoc. Et. Phys. Path. Foie. Nutrition*, 1950, n° 12, 7, 115, p. 30.

[3] Alliot (M.). — Exploration fonctionnelle hépatique : Le test de la B. S. P. et les tests de floculation, *Ann. Biol. Clin.*, 1948, n^{os} 7-8.

[4] Aubertin (E.), Blanchot (P.) et Juin (M.). — Foie, Rhumatisme articulaire aiguë et salicylate de soude, *Revue du Foie*, VIII, n° 3, 1949.

[5] Azerad et Berthaux. — Les ictères thyro-thérapeutiques, *B. M. S. M. H. P.*, 1948, p. 1.045.

[6] Azerad, de Brux, Nataf et Housset. — Ictère grave mortel par hépatite aiguë chez une hyperthyroïdienne traitée par l'aminothiazol, *B. M. S. M. H. P.*, 1948, p. 1.041.

[7] Badin (J.) et Choukroun (J. C.). — Le thymol test de Mac Lagan dans la grossesse et dans les suites de couches. Comparaison avec le test de Vernes à la Résorcine, *Ann. Biol. Clin.*, 1950, n° 3, 279.

[8] Barbier (P.). — Nouveaux tests d'insuffisance hépatique, *Rapport 1er Congrès Intern. Biol. Clin., Paris*, 1948, 104.

[9] Barker (M. A.), Capps (R. B.) and Allen (F. W.) — Acute infectious hépatitis in Meditteranean area, *J. A. M. A.*, 1945, 128, 997.

[10] Benard (H.), Albahary (C.), Gadjos (A.), M^{me} Poussier, Hauville (S.) et Rambert (P.). — Les tests de floculation au thymol et à la céphaline cholestérol dans les affections hépatiques, *Sem. Hôp.*, 1949, n^{os} 1-7.

[11] Bernard (A.), Paget (M.). — Le syndrome biochimique en Pathologie hepatique. Ses limites et perspectives, *Acta Gastro-Enterol, Belgica*, 1950, 1, 25-37.

[12] Bing (J.) and Jessen (C. U.). — *Acta med. Scand.*, 1940, 105, 273.

[13] Bingen et Stalte. — *Nederland Tijdschrift v. Genuskunde*, 1946, 190, 52.

[14] Blix (J.). — *J. Biol. Chem.*, 1941, 137, 495.

[15] Blix (J.), Tiselius (A.) and Svensson (H.). — *J. Biol. Chem.*, 1941, 137, 485.

[16] Bollman (J. L.) and Mann (F. C.). — Physiology of impaired liver, *Ergebn. Physiol.*, 1936, 38, 445.

[17] Bricq (R.), Gager (A.) et Lacapère (J.). — Précipitation fractionnée du sérum par la sulfate d'ammoniaque. Recherche de la resorcidine dans le précipité, *Ann. Biol. Clin.*, 1948, n^{os} 7-8, 368.

[18]. Bronstein (L. H.) and Reid (R. D.). — Cephalin cholesterol flocculation test in Malaria. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 1945, 60, 140.

[19] Bruger (M.). — Fractional C. C. F. in hepatic disease, *Science*, 1943, 97, 585.

[20] Cachin (M.). — Les manifestations hépatiques de la mononucléose infectieuse, *Sem. Hôp.*, 1949, 25, 861.

[21] Carey, Mac Cord (G.), Sterner (J.), Kline (L.) and Williams (P.). — The thymol barbital test in experimental carbon tetrachloride poisoning, *Occup. Med.*, 1946, n° 2, 160.

[22] Caroli (J.) et Alliot (M.). — Les tests de dysfonction hépatique par éliminations colorées, *Bull. Assoc. Et. Phys. Patho., Foie, Nutrition*, 1950, n^{os} 11, 15, 98.

[23] Caroli (J.), Paraf (A.) et Alliot (M.). — Contribution à l'étude physiopathologique du foie dans les migraines, *Sem. Hôp.*, 1949, 41, 1.743.

[24] Carter (A. B.) and Mac Lagan (N. F.). — Some observations on liver function tests in diseases not primarily hepatic, *Brit. Med. J.*, 1946, 2, 80.

[25] Clay (H. L.) and Moore (J. W.). — Cephalin-Cholesterol ether emulsion floculation test, *Clinics*, 1942, 1, 980.

[26] Cohen (P. P.) and Thompson (F. L.). — Mechanism of thymol turbidity test (*J. Lab. Clin. Med.*, 1947, 32, 475.

[27] Cohn and Lidmann. — *J. Clin. Invest*, 1946, 25, 145.

[28] Cunnac (P.). — Valeur de la Réaction de Mac Lagan pour le Diagnostic des Ictères, *Thèse Médecine, Toulouse*, 1949.

[29] Darnaud, Bimes, Souquet, Ferret, Denard. — La réaction de Mac Lagan dans la Cholostase Expérimentale, *Sem. Hôp., Paris*, 1949, sept., n° 70, p. 2.877.

[30] Darnaud (C.), Ferret (P.). — Données actuelles sur l'exploration fonctionnelle du foie, *Soc. Méd. Chir. Pharm., Toulouse*, 1948, p. 679.

[31] Darnaud, Souquet, Ferret et Denard. — Intérêt chirurgical des nouvelles épreuves d'exploration fonctionnelle du foie, *Soc. Chir., Toulouse*, 1948, p. 589.

[32] Dauphinee (J. O.) and Campbell (N. R.). — Serum proteins in hepatic disease, *Med. Clin. N. America*, 1948, 32, 455.

[33] De la Huerga (J.), Popper (H.). — Standardized Reagent for thymol turbidity test, *J. Lab. and Clin. Med.*, 1949, 34, 877.

[34] Delcourt (R.), Manet (C.). — Application au L. C. R. des réactions de floculation. Le thymol test, *Acta. Neurol. Psychiatr., Belg.*, 1949, 49, n° 2, 96-101.

[35] Delore (P.), Brun et Rochette. — Sur le clavier sérologique hépatique, *Soc. Méd. Hôp., Lyon*, 27 juin 1949 - *J. Méd., Lyon*, 1949, n° 718, 901-904.

[36] Demeulenaere (L.) et Wieme (R.). — La technique de la réaction au sulfate de zinc, *Bull. Assoc. Et. Physio. Path., Foie, Nutrition*, 1950, n° 11, pp. 105-110.

[37] Denard. — L'exploration du foie des tuberculeux par le Thymol Turbidity test de Mac Lagan, *Gaz. Hôp.*, 1949, n^{os} 39-40-41, 481-497.

[38] Dick (A.). — The C. C. F. reaction as a test of hepatic function, *Brit. Med. Jour.*, 1945, 1, 182.

[39] Dougherty (T. F.), Chase (J. H.) and White (A.). — Demonstration of antibodies in lymphocytes, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med., N.-Y.*, 1944, 57, 295.

[40] Enders (J. F.). — Concentration of certain antibodies in globulin fractions derived from human blood plasma, *J. Clin. Invest.*, 1944, 23, 510.

[41] Evans (A. S.). — Liver involvement in infectious mononucleosis, *J. Clin. Invest.*, 1948, 27, 106-110.

[42] Fauvert (R.). — La valeur des méthodes biologiques modernes dans le diagnostic des ictères par rétention, *Rapport Journée Gastro-Entérol. Lang. Franç., Paris*, 11 octobre 1947.

[43] Fauvert (R.). — Données récentes sur les modifications des Protides sanguins dans les maladies du foie, *Les Acquisitions Médicales Récentes*, 1949, p. 65.

[44] Fauvert (R.) et Hartmann (L.). — Technique de la réaction de Mac Lagan (Thymol test), *Bull. Assoc. Et. Phys. Path., Foie, Nutrition*, 1950, n° 11, 111-114.

[45] Ferret. — Contribution à l'étude du rôle du foie dans le déterminisme du diabète sucré, *Thése Méd., Toulouse*, 1949.

[46] Fiessinger (N.) et Castéran (R.). — L'épreuve du Rose Bengale dans la fièvre typhoïde, *B. M. S. M. H. P.*, 1927, 2, 1.559.

[47] Fredericks (M. G.) and Hoffbauer (F. W.). — A study of hepatic function in therapeutic malaria, *J. A. M. A.*, 1945, 128, 495.

[48] Frisch (A. W.) and Quilligan (J. J.). — A modified C. C. Test (Hanger) in the study of hepatic disease, *Am. J. Med. Sc.*, 1947, 212, 143.

[49] Gardner (J. A.) and Gainsborough (H.). — Blood cholesterol studies in biliary and hepatic disease, *Quart. J. Med.*, 1930, 23, 465.

[50] Gaucher, Paris et Desmoulières. — Sur la teneur en cholestérine du sérum sanguin des syphilitiques, *Académie de Médecine*, 16 juillet 1912.

[51] Girard (M.), Fraisse (H.), Chabanon (R.) et M^lle^ Castain. — Le test de Hanger en pathologie hépatique, *Soc. Méd. Hôp., Lyon*, 27 juin 1949.

[52] Gray (S. G.). — *Proc. Soc .Exp. Biol.*, 1942, 51, 401.

[53] Gray (S. G.) and Barron (E. S.). — The electrophoretic analysis of the serum proteins in diseases of the liver, *J. Clin. Invest.*, 1943, 22, 191.

[54] Guttman (S. A.), Potter (H. R.), Hanger (F. M.), Moore (D. B.), Pierson (P. S.) and Moore (D. H.). — Significance of C. C. F. test in malaria i fever, *J. Clin. Invest.*, 1945, 24, 296.

[55] Hanger (F. M.). — The floculation of cephalin cholesterol emulsion by pathological sera., *Trans. Assoc. Amer. Physicians*, 1938, 53, 148.

[56] Hanger (F. M.). — Serological differentiations of obstructive from hepatogenous jaundice by floculation of cephalin-cholesterol emulsion, *J. Clin. Invest.*, 1939, 18, 261.

[57] Hanger (F. M.). — Conf. on, liver Injury 3 nd/Meeting *J.* Macy Foundation., N.-Y., 1945, 114.

[58] Hanger (F. M.). — Conference on liver Injury, Sept. 1946, New-York.

[59] HANGER (F. M.). — Significance of certain laboratories findings in infectious hepatitis, *Trav. Am. Phys.*, 1946, 9, 157.
[60] HANGER (F. M.). — Abnomalities in the globulin component of serum as demonstrable by the cephalin cholesterol test, *Trav. Am. Phys.*, 1947, 9, 82.
[61] HANGER (F. M.), MOORE (D. B.), PIERSON (P. S.) and MOORE (D. H.). — Mechanism of positive cephalin floculation, *J. Clin. Invest.*, 1945, 24, 292.
[62] HANGER (F. M.) and PATEK (C. J.). — The cephalin floculation test in cirrhosis of the liver, *Am. J. M. Sc.*, 1941, 202, 28.
[63] HARTMANN (L.). — *Thèse Paris*, 1949.
[64] HASTINGS (A. B.) and SENDROY (J. Jr.). — *J. Biol. Chem.*, 1924, 61, 695.
[65] HAENS (W. P.) and MARCK RUTHE. - Comparaison of the C. C. F. and thymol turbidity tests in patients with experimentally induced infectious hepatitis, *J. Clin. Invest.*, 1946, 25, 816.
[66] HENRIQUES (V.) und KLAUSEN (U.). — Untersuchungen über den Serumalbumin und Serumglobulin gehalt des Serums unter wecheluden Umständen, *Biochem Z.*, 1932, 254, 414.
[67] HURIEZ (Cl.), DESURMONT (M.) et ARQUEMBOURG (P.). — La réaction de HANGER (céphaline-cholestérol) dans la syphilis et son traitement, *Soc. Dermato. Syph.*, 13 mai 1948.
[68] HURST (A.), MAÏER (H. M.) and LOUGH (S. A.). — Studies of hepatic functions in pulmonary tuberculosis, *Am. J. M. Sc.*, 1947, 214, 431.
[69] JAGER (B. V.) et NICKERSON (M.). — Application clinique d'une méthode simple de dosage des γ globulines, *J. Clin. Invest.*, 1948, 27, 231.
[70] JOURDAIN (M^lle^ Anne). — Contribution au diagnostic biologique des ictères par les méthodes nouvelles, *Thèse Méd., Bordeaux*, 22 janvier 1947.
[71] JUSTIN-BESANÇON, DEBRAY (Ch.), CORNET (A.), BARBIER (P.). — Les tests de dysfonction hépatique par les réactions de GROS, de HANGER, de WUNDERLY, *Bull. Assoc. Et. Phys. Path. Foie, Nutr.*, 1950, n° 12, 116.
[72] JUSTIN-BESANÇON (L.), FAUVERT (R.), KLOTZ (H .P.), BARBIER (P.) et HARTMANN (L.). — La réaction au thymol et son intérêt dans l'insuffisance hépatique, *B. M. S. M. H. P.*, 1947, n^os^ 17-18, 353-355 (mai).
[73] KABAT (E. A.), MOORE (D. H.), LANDOW (H.). — *J. Clin. Invest.*, 1942, 21, 571.
[74] KABAT (E. A.), HANGER (F. M.), MOORE (D. H.) and LANDOW (H.). — The relation of Cephalin floculation and colloïdal gold reactions to the serum proteins, *J. Clin. Invest.*, 1943, 22, 563.
[75] KERN (R. A.) and NORRIS (R. F.). — Liver involvement in malaria, *U. S. Naval. Med. Bull.*, 1944, 43, 847.
[76] KINGSBURY (F. B.), CLARK (C. P.), WILLIAMS (G.) and POST (A. L.). — The rapid determination of albumin in urine, *J. Lab. and Clin. Med.*, 1926, 11, 981.
[77] KIRSCHNER (P. A.) and GLICKMAN (S .I.). — *J. Lab. and Clin. Med.*, 1943, 28, 1.721.
[78] KISSANE (R. W.), FIDLER (R. S.) and CLARK (T. E.). — Liver dysfunction in rheumatic heart disease : preliminary report, *Amer. J. M. Sc.*, 1947, 213, 410.

[79] Kopp (J.) and Solomon (H. C.). — Liver fonction in therapeutic malaria, *Am. J. Med. Sc.*, 1943, 205, 90.

[80] Kruger (A. L.) and Gerber (I. E.). — B. S. P. liver function test in pulmonary tuberculosis. *Am. Rev. Tuberc.*, 1942, 46, 439.

[81] Kunkel (H. G.). — Estimation of altérations of sérum γ globulines by a turbidimetric technic, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1947, 66, 217.

[82] Kunkel (H. G.), Ahrens (E. H.), Eisenmerger (U. J.). — Application of turbidimetric methods for estimation of gammaglobulins and total lipids to the study of patients wiht liver disease, *Gastroenterology.*, 1948, 11, 499.

[83] Kunkel (H. G.) and Hoagland (C. L.). — Mechanism and Significance of the thymol turbidity test for liver diseases. *J. Clin. Invest.*, 1947, 26, 1.060.

[84] Latner (A. L.) and Pendlenton (G. B.). — Serum floculation test at pH 7,55, *Biochem. J.*, 1949, 44, n° 4, 33.

[85] Laudat (M.). — Globuline 14 et Réactions de Hanger et de Mac Lagan, *Bl M. S. M. H. P.*, 1949, 25 *bis*, 137.

[86] Leutscher (J. A.). — Electrophoretic analysis of plasma and urinary proteins. *J. Clin. Invest.*, 1940, 19, 313 - *J. Clin. Invest.*, 1941, 20, 99.

[87] Levy (J. G.) et Roger (S.). — Test de Hanger dans les affections hépatiques. *C. R. Soc. Méd., Strasbourg*, 6 novembre 1948 - *Strasbourg Méd.*, 1949, 8, 95-97.

[88] Lipincott (S. W.), Ellerbrook (L. D.), Hesselbrock (W. B.), Gordon (H. H.), Gottlieb (L.) and Marble (A.). — Liver function tests in chronic relapsing vivax malaria. *J. Clin. Invest*, 1945, 24, 616.

[89] Lippincott (S. W.), Marble (A.), Ellerbrook (L. D.), Hesselbrock (W. B.), Engstrom (W. W.) and Gordon (H. H.). — Liver function tests in neurosyphilitic patients with induced vivax malaria of Pacific and Mediterranean origin, *J. Lab. and. Clin. Med.*, 1946, 31, 991.

[90] Loeper. — L'hyperpoteidémie de l'ictère catarrhal. *Bull. de l'Acad. de Méd.*, 1945, 129, 33-35.

[91] Longsworth (L. G.), Shedlowsky (T.) and Mac Innes (D. A.). — Electrophoretic patterns of normal and pathological human blood serum and plasma. *J. Exp. Med.*, 1939, 70, 399.

[92] Lutembacher et Gallimard. — Le métabolisme des glucides dans la maladie de Bouillaud I Galactopexie. *Presse Méd.*, 1941, 2, 1.183.

Hépatopancréatite rhumatismale. Activité lipasique du pancréas. *Presse Méd.*, 1942, 2, 755.

[93] Mac Cord (C. P.). — 1945 Personal Communication.

[94] *Mac Lagan (N. F.). — Thymol turbidity test: a new indicator of liver dysfunction, *Nature*, 1944, 154, 670.

**The thymol turbidity test as an indicator of liver dysfunction. *Brit. J. Exp. Path.*, 1944, 25, 234.

Laboratory tests in diagnosis of liver disease: report on 3 procedures, *Brit. Med. J.*, 1944, 2, 363.

[95] Mac Lagan (N. F.). — *Proc. Assoc. Clin. Path.*, 1945, 1, 22.

[96] Mac Lagan (N. F.). — Préparation and use of colloïdal gold sols as diagnostic agents. *Brit. J. Exp. Path.*, 1946, 27, 369.

[97] Mac Lagan (N. F.). — Liver function test in diagnosis of jaundice of 200 cases, *Brit. Med. J.*, 1947, 2, 197.

[98] Mac Lagan (N. F.). — The Influence or added cephalin on the thymol turbidity and floculation tests, *Biochem. J.*, 1948, 42, n° 3, XLI.

[99] Mac Lagan (N. F.) and Bunn (D.). — Floculation tests with electrophoretically separated serum proteins, *Biochem. Journ.*, 1947, 41, 580.

[100] Maher (F. T.), Snell (A. M.), Mann (M. D.). — Turbidimetric Estimation of Serum colloïds in the differential diagnosis of hepatobiliary disease, *Gastroenterology*, 1949, 12, 394.

[101] Maizels (M.). — Empirical tests of liver functions, *Lancet* 1946, 251, 451.

[102] Makary (J. G.). — C. C. F. test in chronic malaria and its relation to endemicity, *J. of. Trop Med.*, 1946, 5, 92-94; Brit. Med., *J.* 1946, 272.

Cephalin floculation test in detection of preicteric infective hepatitis and prevention of homologous serum jaundice, *Tr. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1946, 39, 539.

[103] Malmros (H.) and Blix (G.). — Plasma proteins in cases with high erythrocyte sedimentation rate, *Acta Med. Scand.*, 1946, Supp., 170, 280.

[104] Mann (F. D.). — The thymol turbidity test and Impaired liver function, *Gastroenterology*, 1947, 9, 651.

[105] Martin (N. H.). — *J. Clin. Invest.*, 1947, 26, 189.

[106] Martin (N. H.). — Interrelations of the serum proteins in the thymol turbidity test, *Nature*, 1948, 162, 145.

[107] Martin (N. H.). — An electrophoretic study of serum protein components in cirrhosis of the liver, *Brit. J. Exper. Path.*, 1949, 30, n° 3.

[108] Mateer (J. G.). — Personal Communication. Liver function tests. Conference on liver Injury, 2nd Meeting, *J. Macy fundation, N.-Y.*, 1944, 39.

[109] Mateer (J. G.), Baltz (J. I.), Commanduras (P. D.) and Brouwer (S. W.). — Further advances in liver function tests, and value of therapeutic test in facilitating earlier diagnosis and treatment of liver impairment, *Gastroenterology*, 1947, 8. 52-70,

[110] Mateer (J. G.), Baltz (J. I.), Marion and Hollands (B.). — A comparative evaluation of the newer liver function tests, etc., *Am. J. Dig. Diseases*, 1942, 9, 13.

[111] Mateer (J. G.), Baltz (J. I.), Steele (H. H.), Brouwer (S. W.), Colvert (S. R.). — Chronic subclinical impairment of liver : early diagnosis and treatment : Further improvement and evaluation of certain liver function test, *J. A. M. A.*, 1947, 133, 909-916.

[112] Maupin (B.). — Etude de la formol gélification du sérum parallèlement à la Réaction au thymol et à la Sérologie syphilitique, *Annales Inst. Past.*, 1950, 78, 295.

[113] Mirsky (I. M.) and Von Brecht (R.). — The fractional C. C. F. test, *Science*, 1943, 98, 499.

[114] Mirsky (I. A.), Von Brecht (R) and Williams (L. D.). — Hepatic dysfunction in Malaria, *Science*, 1944, 99, 20-21.

[115] Moloney (W. C.), Donovan (A. M.), Whoriskey (F. G.). — A rapid C. C. F. test using centrifugation, *Am. J. Clin. Path.*, 1948, 18, 568.

[116] Moore (D. B.), Pierson (P. S.), Hanger (F. M.) and Moore (D. H.). — Mechanism ot positive C. C. F. reaction in hepatitis, *J. Clin. Invest.*, 1945, 24, 292.

[117] Moses (C.). — Photosensitivity as cause of falsely positive C. C. F., *J. Lab. and Clin. Med.*, 1945, 30, 267.

[118] Myers (W. K.) and Keefer (C. S.). — Relation of plasma proteins to ascites and edema in cirrhosis of liver, *Arch. Intern. Med.*, 1935, 55, 349.

[119] Nanta (A.), Vincent (D.), Bazex (A.) et Roure (M.). — Sur les lipides et les lipoïdes dans le sérum des syphilitiques, *Presse Méd.*, 1943, n° 34, 498.

[120] Neefe (J. R.). — Results of hepatic tests in chronic hepatitis without jaundice. Correlation with clinical course and liver biopsy findings, *Gastroenterology*, 1946, 7, 1.

[121] Neefe (J. R.) and Reinhold (J. G.). — Floculation test, *Science*, 1943, 13, 383.

[122] Neefe (J. R.) and Reinhold (J. G.). — Photosensitivity as a cause of falsely positive C. C. F. tests, *Science*, 1944, 100, 83.

[123] Neefe (J. R.) and Reinhold (J. G.). — Laboratory findings in diagnosis and management of infectious (epidemic) hepatitis : analysis of results obtained by studies on 34 volunteers during early and convalescent stage of induced hepatitis, *Gastroenterology*, 1946, 7, 396.

[124] Olhagen (B.). — On correlation between electrophoretic pattern and certain simple globulin reactions of human serum (Formolgel, Takata and Weltmann tests), *Acta Med. Scand.*, 196, Suppl., 1947, 478.

[125] Oliphant (J. W.), Gilliam (A. G.) and Larson (C. L.). — *Pub. Healt Rep.*, 1943, 58, 1.233.

[126] Paget et Servantié. — Le diagnostic des ictères par les Méthodes nouvelles, *Doc. Biol. Praticien*, n° 2, déc. 1947, 165.

[127] Pellerat (J.), Vayre (J.) et Rochette (M.). — Recherches sur les nouveaux tests hépatiques dans l'eczéma, *Soc. Fr. Dermat. Syph.*, 23 mars 1949.

[128] Pohle (F. J.) and Stewart (J. K.). — C. C. F. tests as aid in diagnosis of hepatic disorders, *J. Clin. Invest.*, 1941, 20, 241.

[129] Post (J.), Patch (A.). — Serums proteins in cirrhosis of the liver. Nitrogen balances on five patients, *Arch. Intern. Med.*, 1942, 69, 83-89.

[130] Rafsky (H. A.) and Newmann (B.). — Liver fonction tests in the aged. The serum cholesterol partition, Brom sulphalein, cephalin, floculation and oral and intravenous hippuric acid tests, *Amer. J. Dig. Dis.*, 1943, 10, 66.

[131] Recant (L.), Chargaff (E.), Hanger (F. M.). — Comparison of the C. C. F. with the thymol turbidity test,*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 1945, 60, 245.

[132] Rickets (W. E.), Sterling (K.), Kirschnner and Palmer (W. C.). — Electrophoretic studies of the serum proteins in portal cirrhosis, *Gastroenteroloy, Baltimore*, 1949, 11, 205-212.

[133] Rosen (I.), Krasnow (F.), Morris (A.) and Lyons. — Cholesterol and lecithin studies in syphilis, *Arch. of Dermat. and Syphil.*, 1933, 27, 383.

[134] Rosenberg (D. H.). — The cephalin-cholesterol floculation test in the cases of disease of the liver with special reference to the diagnosis of mild and unsuspected forms, *Arch. Surgery*, 1941, 43, 234.

[135] Rosenberg (D. H.) and Soskin (S.). — Comparison of the C. C. F. test with various criteria of liver function, *Am. J. Dig. Dis.*, 1941, 8, 421.

[136] Roure (M.). — Etude des lipides et des lipoïdes dans le sérum des syphilitiques, *Thèse Méd., Toulouse*, 1942.

[137] Saifer (A.). — A method for the quantitative determination of the C. C. F. reaction, *J. Clin. Invest.*, 1948, XXVII, 737.

[138] Saifer (A.) and Kammerer (O. F.). — Photometric determination of total cholesterol in plasma or serum by a modified Liebermann Burchard reaction, *J. Biol. Chem.*, 1946, 164, 657.

[139] Salvesen (H. A.). — *Acta Medica Scandinavica*, 1929, 86, 127.

[140] Schneider (L. A.) and Shallenberger (P. L.). — A study of hepatic function in acquired malaria, *Am. J. M. Sc.*, 1947, 214, 80.

[141] Schulman et Grosti. — Cité par Huriez, 1948.

[142] Shank (R. E.) and Hoagland (C. L.). — A modified method for the quantitative determination of the thymol turbidity reaction of the serum, *J. Biol. Chem.*, 1946, 162, 133.

[143] Snell (A. M.) and Magath (T. B.). — The use and interpretation of tests for liver function, *J. A. M. A.*, 1938, 110, 167.

[144] Sohier, Grégoire, Violette et Poirier. — Cité par Varay, *Presse Méd.*, 1949, n° 5, 75.

[145] Svedberg (T.) and Sjögren (B.). — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1930, 52, 2.855.

[146] Thorn (G. W.), Armstrong (S. H. Jr.) and Davenport (V. D.). — Chemical, clinical, and immunological studies on products of human plasma fractionation, etc., *J. Cl. Invest.*, 1946, 25, 304.

[147] Tiselius (A.). — Electrophoretic analysis and constitution of native fluids, *Harvey Lect.*, 1939, 35, 37.

[148] Tumen (H.) and Bockhus (H. L.). — Clinical significance of serum proteins in hepatic diseases compared with other liver function tests, *Am. J. M. Sc.*, 1937, 193, 788.

[149] Varay (A.). — Les enseignements des nouvelles méthodes de Sérologie hépatique, *Presse Médicale*, 15 janvier 1949, n° 5, 75.

[150] Varay (A.). — Valeur pratique de certains tests récents d'exploration fonctionnelle du foie, *Presse Méd.*, 1950, 58, n° 74, 1.309.

[151] Varay (A.) et Costil (L.). — Le test de Hanger (C. C. Test) dans les affections hépatiques, *B. M. S. M. H. P.*, 1948, n^{os} 12-13, 419, 427.

Etude critique du test de Hanger dans les affections hépatiques, *C. R. Soc. Nat. Gastro-Entéro*, 15 novembre 1948.

[152] Varay (A.) et Frantz (M^{lle}). — Estimation turbidimétrique des γ globulines du sérum,

I. Comparaison avec l'électrophorèse.

II. Application dans les affections hépatiques.

B. M. S. M. H. P., 1949, n^{os} 23-24, p. 855.

[153] Vincent (D.) et Ferret. — Sur la réaction au thymol. Influence de la digestion sur l'intensité de la Réaction, *Ann. Biol. Clin.*, 1948, n^{os} 1-2, 61. Comm. 1er Congrès Biol. Clin.

[154] Vincent (D.) et Girard (M.). — Une nouvelle réaction Sérologique de l'insuffisance hépatique : le test à l'eau distillée, *Presse* Médicale, 1949, n° 58, 807-808.

[155] Vincent (D.) et Lagreu (R.). — Sur la réaction au thymol : Etude des équivalences des divers troubles étalons en Unités Mac Lagan. *Note au 1er Congrès International de Biologie Clinique, Ann. de Biol. Clin.*, 1948, n^{os} 3-4, p. 169.

[156] Vincent (D.), Parant (M.). — Comparaison des données apportées par le « Thymol test » de Mac Lagan et par les Réactions au Sulfate de Cuivre et au Sulfate de Zinc de Kundel en pathologie hépatique, XI^{e} Congrès Ass. Et. Mal. Foie, Vichy, septembre 1950.

[157] Vincent (D.), Parant (M.) et Vergès (J.). — La Réaction de Kundel, Comm. à Soc. Pharm., Toulouse, 19 novembre 1950.

[158] Vincent (D.) et Segonzac (G.). — Le « thymol test » réaction sérologique simple de l'insuffisance hépatique, *Soc. Méd. Chir. Pharm., Toulouse*, mai 1947.

Un nouveau test sérologique d'insuffisance hépatique : la Réaction au thymol de Mac Lagan, *Presse Médic.*, 1947, n° 67, 779.

La Sérologie de l'insuffisance hépatique, *Revue du Foie*, 1947, n° 5 (sept.-oct.).

[159] Vincent (D.), Segonzac (G.), Ferret (M.). — La Réaction au Thymol, *Toulouse Méd.*, 1948, p. 639.

[160] Wade (L. J.) and Richman (E. E.). — C. C. F. test, *Journ. Lab. and Clin. Med.*, 1945, 30, 6.

[161] Wadsworth (A. B.). — Standard Methods of the Division of Laboratories and Research of the New-York State Department of Health, Baltimore, 625, 1927.

[162] Watson (C. J.), Rapaport (E. M.), Hawkinson (V.) and Giebenhain (M.). — A comparison of the results ofbtained with the Hanger C. C. F. test and the Mac Lagan turbidity test in patients with liver disease, *J. Lab. and Clin. Med.*, 1945, 30, 983.

[163] Wuhrmann (F.) und Wunderly (C. H.). — Die Bluteiweiss Körper des Menschen, Schwabe, Basle, 1947.

[164] Zimmermann (H. J.), Lowry (C. F.), Uyeyama (K.) and Reiser (R.). — Infectious hepatitis: clinical and laboratory features of 295 cases, *Amer. Jour. Med. Sc.*, 1947, 213, 395.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 7

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE I - Justification de l'emploi de la Sérologie Hépatique 9
Bref aperçu historique 9
Valeur des différentes techniques face au déséquilibre protidique 10
Images electrophorétiques des affections hépatiques 10
Intérêt des réactions de floculation de la Sérologie Hépatique 12

CHAPITRE II - Techniques 13
1 - Réaction de Hanger 13
2 - Réaction de Mac Lagan 19
3 - Réaction de Kunkel 26

CHAPITRE III - Mécanisme 29
1 - Réaction de Hanger 29
2 - Réaction de Mac Lagan 31
3 - Réaction de Kunkel 36

CHAPITRE IV - Les réactions Sérologiques Hépatiques en Clinique 38
1 - Maladies Hépatiques 38
A) Etude analytique
Réaction de Hanger 38
Réaction de Mac Lagan 41
Réaction de Kunkel 44
B) Revue Syntétique : le Protéinogramme 45
2 - Maladies Extrahépatiques 46
3 - Participation Hépatiques 47
CONCLUSION 51

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE I - Techniques utilisées dans notre travail 53
1 - Réaction de Hanger 53
2 - Réactions de Mac Lagan et de Kunkel 54
3 - Réaction de Gros 54
4 - Interprétation des Résultats 55
Travail personnel en Clinique Hépatique 57

CHAPITRE II - Les Réactions de la Sérologie Hépatique dans la Syphilis 61
1 - Aperçu historique 61
2 - Travail personnel 62
3 - Interprétation des Résultats 68

CONCLUSIONS 72

BIBLIOGRAPHIE 76